



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Medicina e Chirurgia

Corso di laurea magistrale a ciclo unico in medicina e chirurgia

Dipartimento di Scienze Chirurgiche Oncologiche e Gastroenterologiche

Direttore: Prof. Umberto Cillo

U.O.C. Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas

Direttore: Prof.ssa Lucrezia Furian

TESI DI LAUREA

ALLOTRAPIANTO DI INSULE PANCREATICHE: ANALISI DELLA CASISTICA E DEI RISULTATI DI UN NUOVO PROGRAMMA ITALIANO

Relatore: Prof.ssa Lucrezia Furian

Correlatore: Dott.ssa Caterina Di Bella

Laureanda: Arianna Bertuol

Anno Accademico 2023/2024

INDICE

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
INTRODUZIONE	5
1. DIABETE MELLITO DI TIPO 1	5
1.1. Epidemiologia.....	5
1.2. Eziopatogenesi.....	6
1.3. Presentazione clinica	6
1.4. Diagnosi.....	8
1.5. Complicanze	11
1.5.1. <i>Complicanze acute</i>	11
1.5.2. <i>Complicanze croniche</i>	14
2. MANAGEMENT DEL DIABETE DI TIPO 1	17
2.1. Stile di vita.....	17
2.2. Monitoraggio del livello di controllo glicemico	18
2.2.1. <i>Emoglobina glicata (HbA1c)</i>	19
2.2.2. <i>Automonitoraggio della glicemia: BGM e CGM</i>	20
2.3. Terapia insulinica	25
2.3.1. <i>Iniezioni giornaliere multiple (MDI)</i>	26
2.3.2. <i>Infusione sottocutanea continua di insulina (CSII) o pompa insulinica</i>	27
2.3.3. <i>Limiti della terapia insulinica</i>	30
3. TERAPIA SOSTITUTIVA CON β-CELLULE NEL T1D	32
3.1. Trapianto di pancreas.....	34
3.1.1. <i>Storia</i>	34
3.1.2. <i>Trapianto di pancreas simultaneo a rene (SPK) o dopo rene (PAK)</i>	34
3.1.3. <i>Trapianto di solo pancreas (PTA)</i>	36
3.2. Trapianto di insule pancreatiche.....	43
3.2.1. <i>Storia</i>	43
3.2.2. <i>Indicazioni per ITA, SIK e IAK</i>	46
3.2.3. <i>Selezione dei donatori</i>	47
3.2.4. <i>Processo di isolamento delle insule pancreatiche</i>	47
3.2.5. <i>Processo di infusione delle insule pancreatiche nel ricevente</i>	50

3.2.6. <i>Complicanze</i>	51
3.2.7. <i>Outcome</i>	51
SCOPO DELLO STUDIO	55
MATERIALI E METODI	57
1. Disegno dello studio	57
2. Selezione dei riceventi	57
2.1. Criteri di inclusione	57
2.2 Criteri di esclusione	58
2.3. Valutazione dell' idoneità e inserimento in lista d'attesa	59
3. Selezione dei donatori	60
4. Isolamento delle insule pancreatiche	60
5. Infusione delle insule nel ricevente	63
6. Terapia farmacologica	65
6.1. Protocollo immunosoppressivo.....	65
6.2. Terapia insulinica.....	66
6.3. Altre terapie concomitanti.....	67
7. Monitoraggio post-procedura	68
8. Follow-up	68
9. Valutazione dell'efficacia del trapianto	69
RISULTATI	71
DISCUSSIONE	85
CONCLUSIONI	95
BIBLIOGRAFIA	97

ABBREVIAZIONI

ADA, American Diabetes Association
AGP, Ambulatory Glucose Profile
AOUP, Azienda Ospedale-Università di Padova
ATG, Anti-Thymocyte Globulin
BGM, Blood Glucose Monitoring
BMI, Body Mass Index
CGM, Continuous Glucose Monitoring
CITR, Collaborative Islet Transplant Registry
CSII, Continuous Subcutaneous Insulin Infusion
CV, Coefficiente di variazione
DBD, Donation after Brain Death
DCCT, Diabetes Control and Complications Trial
DCD, Donation after Cardiac Death
DKA, Diabetic Ketoacidosis
DKD, Diabetic Kidney Disease
DSMES, Diabetes self-management education and support
DTZ, Ditzzone
EDIC, Epidemiology of Diabetic Interventions and Complications
eGFR, estimated Glomerular Filtration Rate
EPITA, European Pancreas and Islet Transplant Association
ESKD, End-Stage Kidney Disease
GAD, Glutamic Acid Decarboxylase
GLP-1, Glucagon-Like Peptide-1
GMI, Glucose Management Indicator
HbA1c, Emoglobina glicata
HLA, Human Leukocyte Antigen
IA2, Islet Antigen 2
IAA, Autoanticorpi anti-insulina
IAK, Islet-After-Kidney Transplant
ICA, Autoanticorpi anti-insula pancreatica
IEQ, Numero di equivalenti di insule
INR, International Normalized Ratio

IPITA, International Pancreas and Islet Transplant Association

isCGM, Intermittently scanned CGM

ITA, Islet Transplant Alone

ITx, Trapianto di insule

LADA, Latent Autoimmune Diabetes in Adults

MDI, Multiple Daily Injections

NITp, Nord Italian Transplant

P-PASS Score, Pre-Procurement Pancreas Suitability Score

PAK, Pancreas-After-Kidney Transplant

PDRI, Pancreas Donor Risk Index

PRA, Panel Reactivity Antibodies

PTA, Pancreas Transplant Alone

PTT, Tempo di Tromboplastina Parziale

PTx, Trapianto di pancreas

rtCGM, Real-time CGM

SAP, Sensor-Augmented insulin Pump

SHEs, Severe Hypoglycaemic Events

SIK, Simultaneous Islet-Kidney Transplant

SPK, Simultaneous Pancreas-Kidney Transplant

T1D, Type 1 Diabetes

T2D, Type 2 Diabetes

TAR, Time Above Range

TBR, Time Below Range

TC, Tomografia Computerizzata

TCD, Terapia Cellulare del Diabete

TIR, Time In Range

TNF- α , Tumor Necrosis Factor- α

TRIMECO, Trial Comparing Metabolic Efficiency of Islet Graft to Intensive Insulin Therapy for Type 1 Diabetes's Treatment

UOC, Unità Operativa Complessa

ZnT8, Zinc Transporter-8

RIASSUNTO

Presupposti dello studio: L'allotrapianto di insule pancreatiche rappresenta una promettente opzione terapeutica, minimamente invasiva, per pazienti con diagnosi di diabete mellito di tipo 1 (T1D) incapaci di mantenere un adeguato controllo glicemico, nonostante una terapia medica ottimale e l'uso di tecnologie avanzate di monitoraggio della glicemia.

Scopo dello studio: Il presente studio si propone di presentare ed analizzare i risultati del nuovo programma di allotrapianto di insule pancreatiche avviato da novembre 2023 presso l'UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas dell'Azienda Ospedale-Università di Padova (AOUP), descrivendo i primi trapianti eseguiti consecutivamente fino ad oggi.

Materiali e Metodi: È stato condotto uno studio osservazionale descrittivo su singolo centro che analizza i primi quattro casi consecutivi di trapianto di insule pancreatiche, eseguiti su tre pazienti. Sono stati illustrati, nell'ordine: i criteri di inclusione ed esclusione dei riceventi e la valutazione della loro idoneità al trapianto di insule, i criteri di selezione del donatore, il processo di isolamento delle insule pancreatiche, la procedura di infusione nel ricevente, il protocollo farmacologico utilizzato con particolare riguardo al regime immunosoppressivo, il monitoraggio del ricevente post-procedura e, infine, il *follow-up* a 1 e 3 mesi post-infusione. In particolare, sono stati valutati gli *outcome* secondo i criteri di Igls 2.0 e il *BETA-2 score* ad 1 e 3 mesi di distanza da ciascuna infusione, analizzando livelli di C-peptide, fabbisogno insulinico e controllo glicemico (HbA1c e metriche ricavate dal sensore di *continuous glucose monitoring*, CGM).

Risultati: Il paziente 1 (maschio, di 52 anni) è stato sottoposto a due infusioni consecutive e, dato l'andamento glicemico non soddisfacente a 3 mesi dalla seconda infusione (*Time In Range*, TIR=13%), è attualmente in lista per eseguirne una terza. La paziente 2 (donna, di 46 anni), già sottoposta a due precedenti trapianti di pancreas falliti, a 3 mesi dal trapianto di insule presenta un controllo glicemico pressoché invariato (TIR=46% pre-trapianto vs TIR=47% post-trapianto), motivo per cui è stata anch'essa reinserita in lista per eseguire una seconda infusione. Il

paziente 3 (maschio, di 23 anni), con storia di diabete caratterizzata da frequenti episodi di ipoglicemia severa, dimostra un eccellente controllo glicemico ad un mese dal trapianto (TIR=98%), che si è mantenuto ottimale e all'interno di tutti gli intervalli *target* anche a 3 mesi dall'infusione (TIR=78%). In tutti e tre i pazienti trapiantati, si è osservata una riduzione complessiva del *Time Below Range* (TBR) dopo il trapianto e, soprattutto, l'assenza totale di episodi di ipoglicemia severa. Per ciò che concerne la funzionalità del *graft* β -cellulare, confrontando i risultati ottenuti con i criteri di IglS 2.0, tutti i pazienti ad un mese dal trapianto hanno raggiunto una buona *graft function*, mentre a 3 mesi i risultati appaiono più eterogenei. Non si sono documentate complicanze peri- e post-procedurali in nessun paziente e tutti e tre i pazienti hanno dimostrato una buona tolleranza della terapia immunosoppressiva.

Conclusioni: I dati ottenuti, seppur limitati dalla ridotta numerosità dei casi e dalla brevità del periodo di *follow-up*, sono risultati concordi con quanto riscontrato in letteratura. Anche in questo studio, infatti, è stato evidenziato che, contrariamente al trapianto di pancreas solido, l'indipendenza dal trattamento insulinico non deve rappresentare l'obiettivo primario del trapianto di insule pancreatiche. Al contrario, la sua efficacia risiede nella dimostrata capacità di migliorare il controllo glicemico nei pazienti con T1D rispetto all'epoca pre-trapianto e nel prevenire gli episodi di ipoglicemia severa a lungo termine. D'altro canto, la progressiva perdita di funzionalità del *graft* β -cellulare, e, con essa, dei miglioramenti metabolici raggiunti, è una criticità del trapianto di insule universalmente riconosciuta e, per questo, non è per nulla inconsueta la necessità di eseguire infusioni multiple. Resta fondamentale un'attenta selezione del paziente candidato al trapianto di insule, bilanciando caso per caso rischi e benefici clinici, in quanto, l'indicazione all'allo-trapianto di insule pancreatiche, ad oggi, è ancora limitata dalla necessità di impostare una terapia immunosoppressiva sistemica cronica.

ABSTRACT

Background: Pancreatic islet allotransplantation is a promising minimally invasive therapeutic option for a subgroup of patients with type 1 diabetes mellitus (T1D) who are unable to maintain adequate glycemic control despite an optimal medical therapy and the use of advanced glucose-monitoring technologies

Aim of the study: The aim of this study is to show and analyze the results of the new pancreatic islet allotransplantation program started in November 2023 at the Kidney and Pancreas Transplant Surgery Unit - *Azienda Ospedale-Università di Padova (AOUP)*, describing the first transplants performed consecutively to date.

Materials and Methods: A single-center observational descriptive study was conducted, analyzing the first four consecutive cases of pancreatic islet transplantation, performed on three patients. The study illustrates inclusion and exclusion criteria for recipients, assessment of their eligibility for islet transplantation, donor selection criteria, pancreatic islet isolation process, infusion procedure into the recipient, pharmacological protocol (focusing on the immunosuppressive regimen), post-procedure recipient monitoring and follow-up at 1 and 3 months post-infusion. Outcomes were assessed using the *Igls 2.0 criteria* and the *BETA-2 score* at 1 and 3 months post each infusion, analyzing C-peptide levels, insulin requirements and glycemic control (HbA1c and metrics derived from CGM sensors).

Results: Patient 1 (male, 52 years) underwent two consecutive infusions and, given the unsatisfactory glycemic control at 3 months after the second infusion (Time In Range, TIR=13%), is currently listed for a third infusion. Patient 2 (female, 46 years), who had previously undergone two failed pancreas transplants, showed unchanged glycemic control 3 months after islet transplantation (TIR=46% pre-transplant vs TIR=47% post-transplant), leading to re-listing her for a second infusion. Patient 3 (male, 23 years), with a history of diabetes characterized by frequent episodes of severe hypoglycemia, demonstrated excellent glycemic control one month after transplantation (TIR=98%), which remained optimal and within target ranges even 3 months post-infusion (TIR=78%). All three transplanted

patients showed an overall reduction in the Time Below Range (TBR) post-transplant, with a complete absence of severe hypoglycemic episodes. Regarding β -cell graft function, all patients achieved good graft function according to IGLs 2.0 criteria at 1-month post-transplantation, while results were more heterogeneous at 3 months. No peri- or post-procedural complications were registered and all three patients showed good tolerance to immunosuppressive therapy.

Conclusions: The data obtained – although limited by the small number of cases and the short follow-up period – were consistent with findings in the literature. Indeed, in contrast to whole pancreas transplantation, this study highlights that insulin independence should not be the primary goal for pancreatic islet transplantation. Its efficacy is evidenced by the improvement in glycemic control in T1D patients, compared to the pre-transplant period, and in the prevention of long-term severe hypoglycemic episodes. However, the progressive loss of β -cell graft function is a recognized challenge in islet transplantation, often necessitating multiple infusions. A careful selection of transplant candidates remains crucial, balancing clinical risks and benefits case-by-case since the indication for pancreatic islet allotransplantation is still limited by the need for chronic systemic immunosuppressive therapy.

INTRODUZIONE

1. DIABETE MELLITO DI TIPO 1

Il diabete mellito di tipo 1 (*Type 1 Diabetes*, T1D) è una patologia endocrina cronica caratterizzata dalla distruzione delle β -cellule pancreatiche, prevalentemente su base immunomediata, a cui segue un deficit assoluto della produzione di insulina, che richiede un trattamento insulinico sostitutivo per tutta la vita¹.

Storicamente, è sempre stata considerata una patologia tipica dell'infanzia e dell'adolescenza, tuttavia nell'ultima decade la prospettiva sta cambiando e ben un quarto dei casi viene diagnosticato tra la popolazione adulta^{1,2}.

1.1. Epidemiologia

Secondo il Ministero della Salute, in Italia 300.000 persone sono affette da diabete mellito di tipo 1 e, nel Mondo, esso rappresenta circa il 2% dei casi totali di diabete^{3,4}.

Anche se il T1D può essere diagnosticato a qualsiasi età, il picco di incidenza si osserva in età pediatrica, in particolare tra i 10 e i 14 anni, con una maggior prevalenza nel sesso maschile¹. Inoltre, vi è un'ampia variabilità geografica in termini di prevalenza ed incidenza, entrambe attualmente in crescita: i tassi maggiori si osservano nei Paesi del Nord Europa, i minori nel continente Asiatico⁵.

La maggior parte dei dati epidemiologici disponibili si riferiscono alla popolazione pediatrica, in quanto l'inquadramento epidemiologico di tale patologia all'interno della popolazione adulta risulta molto difficile a causa della maggior incidenza del diabete di tipo 2 (T2D) in questa fascia d'età e della carenza di criteri per una chiara e univoca diagnosi differenziale tra le due forme. Ad ogni modo, la maggior parte delle persone che convivono con questa patologia, attualmente, sono adulti⁶.

1.2. Eziopatogenesi

Il T1D è il risultato di interazioni fra fattori genetici, immunitari e ambientali, in combinazione variabile fra i diversi pazienti, che portano alla distruzione immunomediata delle β -cellule pancreatiche⁷.

Per quanto riguarda la suscettibilità genetica, il maggior fattore di rischio ereditario è rappresentato da alcuni polimorfismi nelle regioni HLA di classe II – in particolare dei loci HLA-DR e HLA-DQ – che mediano la tolleranza immunologica contro le molecole self e non self; sono stati poi individuati più di altri 60 loci non-HLA associati a rischio di T1D, tra cui alcuni polimorfismi del gene INS codificante per l'insulina e dei geni che regolano l'attivazione dei linfociti T⁶.

Un'ulteriore conferma dell'importante ruolo patogenetico del sistema immunitario è data dall'espressione di multipli autoanticorpi diretti contro varie molecole delle insule pancreatiche, come l'insulina (IAA), le GAD (decarbossilasi dell'acido glutammico, per es. GAD-65), la tirosin-fosfatasi di tipo 2 (IA2) e il trasportatore dello zinco (ZnT8A); più del 90% degli individui con una recente diagnosi di T1D presenta uno o più dei seguenti autoanticorpi all'esordio della malattia e la positività ad almeno uno di essi determina un rischio del 68% di sviluppare T1D a 5 anni^{1,8}.

Diversamente dai quelli genetici e immunitari, i fattori ambientali che influenzano lo sviluppo del T1D sono ad oggi molto meno caratterizzati, anche se alcune infezioni virali, l'equilibrio del microbiota intestinale e le abitudini alimentari sembrano avere un ruolo importante⁷.

1.3. Presentazione clinica

Recentemente, è stato dimostrato che il processo di sviluppo del T1D è un continuum attraverso diverse fasi consecutive che precedono l'insorgenza dei sintomi e che progrediscono sequenzialmente in un arco temporale variabile tra i singoli individui. In particolare, si individuano tre stadi⁹:

- Stadio 1: presenza di autoimmunità contro le β -cellule (≥ 2 autoanticorpi), glicemia normale, assenza di sintomi;
- Stadio 2: presenza di autoimmunità contro le β -cellule (≥ 2 autoanticorpi), alterata tolleranza al glucosio (IGT), assenza di sintomi; in questa fase, il rischio a 5 anni di sviluppare la malattia sintomatica è del 75%;

- Stadio 3: presenza di autoimmunità contro le β -cellule, aumento dei livelli di glucosio nel sangue sopra i limiti diagnostici, comparsa di sintomi; a questo stadio, quindi, si parla di T1D conclamato.

Dal punto di vista clinico, il classico esordio del T1D in età pediatrica è caratterizzato dalla seguente triade di sintomi²:

- a) Poliuria: si verifica quando la concentrazione plasmatica di glucosio supera significativamente la soglia renale che ne garantisce il riassorbimento tubulare (pari a 180 mg/dl), portando così ad un aumento della sua escrezione urinaria; la glicosuria, a sua volta, è la causa della poliuria e dell'ipovolemia;
- b) Polidipsia: l'aumento dello stimolo della sete è una conseguenza dell'aumentata osmolarità del siero dovuto all'iperglicemia e all'ipovolemia;
- c) Calo ponderale: si verifica a causa dell'aumentato catabolismo nel tessuto muscolare e adiposo, conseguente alla carenza insulinica; mentre, inizialmente, tali bambini riferiscono un aumento dell'appetito, poi con il tempo diventa preponderante il sintomo della sete, così come la nausea e l'anoressia, secondarie alla chetosi, contribuiscono ulteriormente alla perdita di peso.

Tali sintomi solitamente progrediscono in circa tre o quattro mesi, un arco di tempo piuttosto breve⁸.

In circa il 30% dei casi, invece, il T1D insorge in forma di chetoacidosi diabetica (DKA)⁶, una delle complicanze acute più temibili che verrà discussa più nel dettaglio in seguito. I sintomi sono simili a quelli dell'esordio classico, ma più severi, e possono associarsi il tipico alito acetonemico e segni neurologici, come sonnolenza e letargia; inoltre, la DKA può essere erroneamente confusa con un episodio di vomito acuto, poiché i classici sintomi pediatrici di disidratazione (diminuzione della minzione) sono mascherati dalla poliuria associata alla glicosuria².

Infine, la forma di presentazione meno comune nei bambini è quella silente, in cui la malattia viene scoperta incidentalmente, in assenza di sintomi clinici: questo si verifica tipicamente in coloro che hanno un altro familiare stretto affetto da T1D,

motivo per cui vengono sottoposti più frequentemente a monitoraggio della glicemia ed, eventualmente, allo screening per gli autoanticorpi pancreatici².

Come già accennato, sebbene le definizioni tradizionali considerino il T1D una patologia ad insorgenza giovanile, non è per nulla raro il suo esordio in età adulta, spesso con sintomatologia più variabile ed eterogenea rispetto ai classici sintomi descritti nei bambini.⁶ In particolare, la forma clinica più comune di T1D con *adult-onset* è quella comunemente conosciuta come LADA (*Latent Autoimmune Diabetes in Adults*), caratterizzata da una più lenta progressione del danno autoimmunitario a carico delle β -cellule e, quindi, ad un'iniziale attività residua delle insule pancreatiche; per tale motivo, questi pazienti non hanno necessità di iniziare il trattamento insulinico subito al momento della diagnosi e, per definizione, nemmeno per almeno i primi 6 mesi successivi^{10,11}. In realtà, pur trattandosi di una forma autoimmune, il LADA condivide molte caratteristiche cliniche e metaboliche con il T2D, rendendo molto difficile la diagnosi unicamente sulla base del fenotipo clinico; pertanto, gli individui con LADA vengono spesso diagnosticati erroneamente come affetti da T2D¹⁰.

1.4. Diagnosi

La diagnosi di diabete mellito è universale per tutte le tipologie e si basa sui criteri forniti dall'*American Diabetes Association (ADA)*, elencati nella *Tabella I*. I due principali parametri che possono essere valutati sono l'emoglobina glicata (HbA1c) e il livello di glucosio plasmatico, misurato a digiuno, in risposta al test con carico orale di glucosio (OGTT) oppure come reperto casuale se accompagnato da sintomi iperglicemici (es. poliuria, polidipsia e perdita di peso inspiegata) o da crisi iperglicemiche¹².

Tabella I – Criteri per la diagnosi del diabete secondo l’American Diabetes Association

1. A1C \geq 6.5%. The test should be performed in a laboratory using a method that is NGSP certified and standardized to the DCCT assay.*
OR
2. FPG \geq 126 mg/dL (7 mmol/L). Fasting is defined as no caloric intake for at least 8 hours.*
OR
3. 2-hour plasma glucose \geq 200 mg/dL (11.1 mmol/L) during an OGTT. The test should be performed as described by the World Health Organization, using a glucose load containing the equivalent of 75 g anhydrous glucose dissolved in water.*
OR
4. In a patient with classic symptoms of hyperglycemia or hyperglycemic crisis, a random plasma glucose \geq 200 mg/dL (11.1 mmol/L).

A1C: glycated hemoglobin; DCCT: Diabetes Control and Complications Trial; FPG: fasting plasma glucose; NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program; OGTT: oral glucose tolerance test.

* In the absence of unequivocal hyperglycemia, diagnosis requires 2 abnormal test results from the same sample or in 2 separate test samples.

Reprinted with permission from: American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes 2011. Diabetes Care 2011; 34:S11. Copyright © 2011 American Diabetes Association. The content within this table is still current as of the 2024 version of the Standards of Medical Care in Diabetes.

Dopo aver fatto diagnosi di diabete mellito, è necessario distinguere il diabete di tipo 1 da quello di tipo 2.

Dal punto di vista patogenetico, la carenza di insulina nel T1D è dovuta alla distruzione autoimmune delle cellule β pancreatiche, mentre nel T2D si tratta di una carenza relativa, conseguente al fenomeno dell’insulino-resistenza; nonostante ciò, non ci sono ancora criteri o test diagnostici che permettano di fare una chiara diagnosi differenziale tra le due forme e la differenziazione avviene grazie ad una combinazione tra caratteristiche cliniche ed esami di laboratorio².

Per quanto riguarda la presentazione clinica, i pazienti con T1D hanno spesso una storia di perdita di peso, il 45% dei casi si manifesta prima dei 10 anni di età e il 10% ha un familiare stretto affetto. Al contrario, i pazienti con T2D frequentemente sono adulti, presentano obesità e il 75-90% ha un familiare stretto affetto; inoltre, tale forma di diabete spesso si inserisce all’interno del quadro di “sindrome metabolica”, accompagnandosi ad altre patologie quali ipertensione, dislipidemie e, nella donna, sindrome dell’ovaio policistico.²

Ancora più utili ai fini della diagnosi differenziale sono i test di laboratorio, in particolare la valutazione di:

- Autoanticorpi pancreatici: la rilevazione di autoanticorpi anti-insula pancreatica (ICA), anti-insulina (IAA), anti-GAD, anti-IA2 e/o anti-ZnT8 conferma la diagnosi di T1D nei bambini e tali marker autoimmuni sono particolarmente utili in coloro in cui la presentazione clinica non è chiara, come nel caso degli adolescenti obesi. Tuttavia, c'è anche una minoranza di pazienti senza autoanticorpi rilevabili che presentano le caratteristiche cliniche del tipo 1 e, dall'altra parte, fino ad un 30% di individui con caratteristiche cliniche del tipo 2 che ha autoanticorpi positivi, come accade nelle forme di LADA^{2,13};
- Livelli di insulina e C-peptide: i pazienti con T1D hanno livelli plasmatici di insulina e C-peptide normali o inaspettatamente bassi in rapporto alla concomitante iperglicemia, mentre livelli elevati di questi due parametri suggeriscono un T2D². In particolare, il C-peptide è una proteina secreta dalle β -cellule in quantità equimolari rispetto all'insulina, a seguito del taglio della proinsulina in insulina; la sua misurazione viene utilizzata come marcatore surrogato della capacità secretoria di insulina endogena e può essere eseguita su un campione di sangue prelevato a digiuno o, più spesso, dopo stimolazione (come glucosio orale, pasto misto o glucagone IV), oppure su un campione di urine come alternativa non invasiva¹⁴.

Nonostante le differenze appena illustrate, in particolare tra gli adulti, la diagnosi differenziale tra diabete di tipo 1 rispetto al tipo 2 rimane difficile, tanto che fino al 50% degli adulti con T1D potrebbero ancora essere inizialmente classificati erroneamente come affetti da T2D. Riuscire ad eseguire un'accurata diagnosi differenziale, d'altra parte, rimane un elemento cruciale ai fini di scegliere la terapia ottimale e prevenire le complicanze⁶.

1.5. Complicanze

1.5.1. Complicanze acute

Le complicanze acute più importanti del T1D sono la chetoacidosi diabetica (DKA) e l'ipoglicemia e possono entrambe rappresentare un'emergenza medica che mette a rischio la sopravvivenza del paziente⁸.

Chetoacidosi diabetica

La chetoacidosi diabetica è uno stato di scompenso metabolico causato da una carenza relativa o assoluta di insulina e caratterizzato da acidosi metabolica, iperketonemia e iperglicemia¹⁵.

Mentre nella popolazione pediatrica la DKA è frequentemente una della modalità di esordio del T1D, nei pazienti adulti si tratta di una complicanza acuta inserita in un quadro di T1D conclamato, che può essere scatenata da un'infezione o, più spesso, dall'insufficiente assunzione di insulina, a causa della scarsa aderenza alla terapia farmacologica o del malfunzionamento dei dispositivi tecnologici che erogano l'insulina. Attualmente, questa complicanza si verifica con una prevalenza di 50-100 eventi per 1000 pazienti adulti, sottolineando la necessità di una migliore prevenzione^{15,16}.

Dal punto di vista clinico, i sintomi della DKA si sviluppano nel corso di diverse ore e includono nausea, vomito, dolore addominale, poliuria e sete eccessiva. I criteri diagnostici biochimici comprendono principalmente iperglicemia, acidosi metabolica con aumento del gap anionico e chetosi, anche se i valori limite differiscono fra le diverse linee guida; secondo i criteri dell'ADA, la DKA è definita da: glicemia >250 mg/dl (13,9 mmol/l), pH arterioso $\leq 7,3$, bicarbonato sierico ≤ 18 mEq/L, *anion gap* aumentato e test positivo per i corpi chetonici nel siero o nelle urine.¹⁵ Occasionalmente, i livelli sierici di glucosio possono anche essere normali: si tratta di una forma di DKA euglicemica, recentemente osservata soprattutto nei soggetti trattati con farmaci inibitori di SGLT2 (*Sodium-glucose cotransporter 2*)¹⁷. Il trattamento della DKA prevede la somministrazione di fluidi, elettroliti e terapia insulinica, unitamente alla risoluzione della causa scatenante identificata¹⁶.

Ipoglicemia

L'ipoglicemia è la complicanza acuta più comune nel T1D e rappresenta, sia per i pazienti che per i loro *caregiver*, un'importante barriera fisiologica e psicologica nel percorso di ricerca di un controllo glicemico ottimale, finalizzato a ridurre il rischio di complicanze a lungo termine del diabete.

Il 40% degli adulti con T1D ha avuto almeno un episodio significativo di ipoglicemia nella propria vita⁸ e la causa è prevalentemente iatrogena, in seguito ad una scorretta somministrazione della terapia insulinica, in termini di dosaggi errati oppure somministrati nel momento e/o nel sito di iniezione sbagliato¹⁸.

Dal punto di vista clinico, l'ipoglicemia causa due tipologie di sintomi¹⁹:

- Neurogeni (o autonomici): cardiopalmo, tremore, ansia, mediati dalle catecolamine, e sudorazione, fame e parestesie, mediate dall'acetilcolina;
- Neuroglicopenici: astenia, vertigini, sonnolenza, delirio, confusione e, a concentrazioni plasmatiche di glucosio molto basse, convulsioni e coma.

Nelle persone sane, una concentrazione di glucosio nel sangue di 70 mg/dl (3,9 mmol/L) rappresenta la soglia per l'attivazione delle risposte neuroendocrine e, quindi, per la successiva comparsa dei sintomi ipoglicemici²⁰.

Al contrario, data la compromissione dei meccanismi controregolatori di risposta all'ipoglicemia, nei pazienti diabetici tali sintomi possono comparire a valori di glicemia molto variabili tra gli individui e, in alcuni casi, possono essere addirittura assenti¹⁸. Quest'ultima condizione è definita *hypoglycemia unawareness* e consiste nella mancata comparsa dei sintomi autonomici anticipatori utili per avvertire il paziente di un'eventuale crisi ipoglicemica imminente, aumentando così la morbilità e la mortalità di quest'ultima; è un fenomeno tipico di pazienti che sperimentano episodi ipoglicemici molto frequenti o con diabete di lunga data^{20,21}.

Sebbene le soglie glicemiche siano variabili tra gli individui, l'ADA ha proposto la classificazione dell'ipoglicemia in tre livelli²⁰:

- Livello 1: glicemia <70 mg/dl (3,9 mmol/L) ma ≥ 54 mg/dl (3,0 mmol/L), soglia che nel paziente diabetico deve essere considerata già clinicamente a prescindere dalla presenza e gravità dei sintomi;
- Livello 2: glicemia <54 mg/dl (3,0 mmol/L), soglia in cui iniziano a manifestarsi i sintomi neuroglicopenici e che richiede un intervento immediato; la mancanza di sintomi ipoglicemici a questo stadio è suggestiva di *hypoglycemia unawareness*, condizione che aumenta esponenzialmente il rischio di evolvere verso un'ipoglicemia severa;
- Livello 3 (o ipoglicemia "severa"): evento ipoglicemico grave caratterizzato da alterazione dello stato fisico e/o mentale tale da richiedere l'assistenza di un'altra persona, indipendentemente dal livello di glucosio; il recupero neurologico dopo la normalizzazione del glucosio plasmatico è considerato una prova sufficiente che l'evento sia stato indotto da una bassa concentrazione di glucosio plasmatico, anche in assenza di misurazioni glicemiche durante l'evento¹⁹.

L'ADA raccomanda di educare i pazienti a correggere l'ipoglicemia, già a partire dal livello 1, con carboidrati ad azione rapida, poiché il glucosio puro è associato ad una migliore risposta glicemica acuta: infatti, consumare 15-20g di carboidrati ad azione rapida in caso di ipoglicemia solitamente aumenta i livelli di glucosio nel sangue entro 15 minuti. Trascorso questo tempo, il paziente deve automonitorare la propria glicemia capillare e, se l'ipoglicemia persiste, il trattamento deve essere ripetuto fino a quando i livelli di glucosio non tornano alla normalità. Infine, si consiglia di consumare un pasto o uno spuntino contenente carboidrati complessi (a lenta azione) per prevenire la ricorrenza dell'ipoglicemia.²²

L'impiego del glucagone è indicato per il trattamento dell'ipoglicemia solo quando un individuo è incosciente o non è in grado di assumere carboidrati per via orale; pertanto, è opportuna la prescrizione di glucagone a tutti i pazienti in terapia insulinica o ad elevato rischio di ipoglicemie, in modo tale che possano averlo a pronta disposizione in caso di emergenza²⁰.

1.5.2. Complicanze croniche

A partire dall'introduzione della terapia insulinica nel 1992, il T1D si è trasformato da malattia spesso fatale, soprattutto in seguito ad episodi acuti di chetoacidosi, ad una patologia cronica degenerativa caratterizzata da molteplici complicanze, responsabili della maggior parte della morbilità e mortalità²³.

Le complicanze croniche del diabete sono prevalentemente di tipo vascolare, colpendo sia i vasi di piccolo calibro (complicanze microvascolari) sia quelli di grande calibro (complicanze macrovascolari), e hanno come substrato fisiopatologico comune l'iperglicemia cronica²⁴.

Complicanze microvascolari

Le complicanze microvascolari comprendono la retinopatia, la neuropatia e la nefropatia diabetica, che causano, rispettivamente, cecità, amputazioni non traumatiche degli arti inferiori ed insufficienza renale²³.

L'iperglicemia cronica è oggi considerata senza dubbio il fattore di rischio primario per lo sviluppo di complicanze microvascolari⁶, grazie alla pubblicazione del *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) nel 1993, il quale ha dimostrato con certezza che un migliore controllo glicemico, ottenuto tramite un programma di trattamento intensivo, è associato a una riduzione del 50-76% nei tassi di sviluppo e progressione delle complicanze microvascolari nei pazienti con T1D; inoltre, il successivo studio osservazionale di *follow-up* intitolato *Epidemiology of Diabetic Interventions and Complications* (EDIC) – tutt'ora in corso – ha dimostrato la persistenza di questi benefici microvascolari per oltre due decenni²³.

La retinopatia diabetica è una delle principali cause di cecità nei pazienti di età compresa tra 25 e 74 anni. Si individuano due forme principali di retinopatia, proliferativa e non proliferativa, denominate rispettivamente per la presenza o l'assenza di nuovi vasi sanguigni che si sviluppano in modo anomalo a partire dalla retina; in entrambe le forme può svilupparsi l'edema maculare. La progressione di questa complicanza può essere rapida e, nella maggior parte dei casi, i sintomi si manifestano in fase già avanzata; pertanto, lo screening periodico con l'esame del *fundus oculi* è di fondamentale importanza nei pazienti diabetici²⁵.

La neuropatia è la complicanza a lungo termine più comune del diabete e quest'ultimo è la causa più comune di neuropatia nel mondo.

Nel 75% dei casi, la neuropatia diabetica si presenta come una polineuropatia cronica, distale e simmetrica ed è una conseguenza dell'iperglicemia di lunga data; tuttavia, può comparire anche nel 20% dei pazienti con recente diagnosi di diabete. Il coinvolgimento delle fibre di grosso calibro provoca perdita sensoriale con tipica distribuzione "a calzino", che si manifesta con parestesie formicolanti e sensazione di intorpidimento che inizia dai piedi e si diffonde in direzione prossimale, solitamente senza dolore; un'importante conseguenza della neuropatia diabetica è lo sviluppo di ulcere dolorose del piede, che può portare talvolta all'amputazione dell'arto. Poiché il trattamento di tale complicanza è solo sintomatico, un ottimale controllo glicemico è fondamentale per la sua prevenzione²⁶.

La nefropatia diabetica si verifica in almeno il 50% delle persone affette da diabete ed è la prima causa di insufficienza renale terminale (ESKD), condizione che richiede l'inizio del trattamento renale sostitutivo con dialisi o il trapianto di rene²⁷. La forma classica di nefropatia diabetica è una sindrome clinica caratterizzata da albuminuria persistente, con conseguente declino progressivo della funzionalità renale, retinopatia concomitante e assenza di altre malattie renali evidenti; dal punto di vista istologico, il termine suggerisce la presenza di un tipico pattern di nefropatia glomerulare. Solitamente, insorge almeno 5 anni dopo la diagnosi di T1D, con un picco di incidenza tra i primi 10 e i primi 20 anni di malattia²⁷.

In più, negli ultimi anni, è stata individuata una seconda forma di nefropatia diabetica, detta "non proteinurica", in cui la riduzione della funzionalità renale si verifica in assenza del fenomeno di albuminuria; è più comune nei pazienti con T2D ed ha eziologia ischemica o legata a patologie tubulo-interstiziali^{27,28}. Ad oggi, quindi, si preferisce utilizzare il termine più ampio di "malattia renale diabetica" (DKD) per includere tutte le forme di danno renale imputabili al diabete^{27,29}.

Nonostante la biopsia renale sia il *gold standard* per la diagnosi di certezza, si può fare diagnosi clinica di DKD, nel T1D, in presenza di albuminuria persistente moderata (A2) o grave (A3) – classificata in base alle attuali linee guida KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*)³⁰ – oppure di una riduzione persistente del tasso stimato di filtrazione glomerulare (eGFR) <60mL/min/1.73 m², entrambe verificatasi almeno 5 anni dopo l'insorgenza del diabete; inoltre, nel

95% dei casi è compresente la retinopatia diabetica e non devono esserci suggerimenti clinici di patologie renali alternative²⁷.

Poiché questa malattia ha un decorso inizialmente asintomatico e quando si manifesta è già presente un notevole danno renale, le linee guida dell'ADA e del gruppo KDIGO raccomandano nei soggetti con T1D lo screening routinario della funzionalità renale e dell'albuminuria a partire da 5 anni dopo la diagnosi²⁷.

Complicanze macrovascolari

Le complicanze macrovascolari comprendono la coronaropatia, la vasculopatia cerebrale e l'arteriopatia periferica e, diversamente da quelle che interessano i piccoli vasi, non sono peculiari del diabete, bensì condividono il substrato fisiopatologico dell'aterosclerosi con altri quadri patologici molto frequenti nella popolazione generale²³.

La malattia cardiovascolare rimane la prima causa di morbilità e mortalità premature nei pazienti diabetici⁶, aumentando più di 10 volte il rischio di infarto miocardico e ictus rispetto alla popolazione non diabetica della stessa età²³.

L'arteriopatia periferica degli arti inferiori si manifesta clinicamente con *claudicatio intermittens*, dolore a riposo, ulcerazione e gangrena, portando, a lungo termine, a significative disabilità e grave compromissione della qualità della vita³¹.

Seppur con un beneficio meno evidente rispetto alle complicanze microvascolari, anche in questo caso, lo studio DCCT/EDIC ha dimostrato l'importanza del controllo glicemico intensivo per la protezione contro la malattia macrovascolare nel T1D: dopo una media di 18 anni di follow-up dall'inizio del DCCT, infatti, si è osservata una riduzione di ben il 58% di eventi cardiovascolari all'interno del gruppo di pazienti sottoposto a trattamento intensivo²³.

2. MANAGEMENT DEL DIABETE DI TIPO 1

L'obiettivo finale del management e della cura del diabete di tipo 1 è permettere a ciascun paziente di vivere non solo più a lungo, ma anche con la migliore qualità di vita possibile; tale scopo può essere raggiunto non solo grazie alla riduzione o eliminazione delle complicanze a lungo termine e dei sintomi dell'ipoglicemia, ma anche scegliendo approcci terapeutici che minimizzino l'impatto psicologico di tale malattia nel paziente stesso e nei suoi familiari³².

I due pilastri fondamentali del management del T1D sono lo stile di vita e la terapia insulinica³³.

2.1. Stile di vita

Con l'espressione *lifestyle management*, l'ADA si riferisce a quattro principali aspetti della gestione del diabete³⁴:

- a) Il programma di educazione e supporto per l'auto-gestione del diabete (*Diabetes self-management education and support*, DSMES), che ha l'obiettivo di educare e responsabilizzare ogni paziente (e il suo *caregiver*) alla gestione quotidiana della propria patologia, affrontando temi quali l'automonitoraggio della glicemia e della chetonuria, la somministrazione della terapia insulinica, la prevenzione e la gestione dell'ipoglicemia; il DSMES è la prima componente essenziale della cura del T1D che consente a tutte le successive misure di intervento di funzionare in modo ottimale³²;
- b) La terapia medica nutrizionale;
- c) L'attività fisica routinaria;
- d) L'assistenza psicosociale, soprattutto per evitare che stati motivati quali ansia, depressione o angoscia legata alla patologia causino nel tempo una scarsa compliance alla terapia.

La terapia medica nutrizionale è il processo mediante il quale la prescrizione dietetica viene personalizzata per ogni individuo in base a numerosi fattori, fra cui: il dosaggio dell'insulina e la tempistica pasto-insulina, l'attività fisica giornaliera, l'eventuale necessità di calo ponderale e, non ultime, le preferenze alimentari

personali; una tale personalizzazione delle indicazioni nutrizionali sulla base delle preferenze e delle necessità del singolo paziente, permette a lungo termine di aumentare la compliance alla dieta.

Gli obiettivi nutrizionali più importanti nei pazienti con T1D sono: mantenere livelli di glucosio nel sangue quasi normali, raggiungere livelli ottimali di pressione sanguigna e di lipidi, prevenire sia le complicanze acute che croniche e migliorare la salute complessiva. Inoltre, l'ADA incoraggia i pazienti ad apprendere ad eseguire correttamente conteggio dei carboidrati, così da valutare in modo preciso il contenuto nutritivo di ciascun pasto o spuntino e migliorare, così, il controllo glicemico³⁵.

L'altro componente fondamentale dello stile di vita di un paziente con T1D è l'esercizio fisico, capace di dare numerosi benefici in termini di obiettivi glicemici, controllo del peso, riduzione delle comorbidità (ipertensione, dislipidemia e malattie cardiovascolari), miglioramento dell'umore e della qualità della vita. L'ADA, infatti, per i pazienti diabetici raccomanda di praticare almeno 150 minuti/settimana di attività fisica a intensità moderata. Inoltre, dato che l'esercizio fisico è in grado di ridurre la glicemia (durante e dopo l'allenamento) e aumentare la sensibilità all'insulina, è opportuno che ciascun paziente monitori i livelli di glucosio prima e dopo l'esercizio fisico, in modo da ponderare la successiva dose di insulina e l'assunzione di carboidrati e prevenire l'ipoglicemia^{34,35}.

2.2. Monitoraggio del livello di controllo glicemico

Come dimostrato dai risultati dello studio DCCT, il trattamento insulinico intensivo è il *gold standard* per la terapia del T1D in tutto il mondo, con l'obiettivo primario di raggiungere valori glicemici il più possibile vicini a quelli normali per ridurre il rischio di complicanze a lungo termine, soprattutto quelle microvascolari³⁶.

D'altra parte, però, il fabbisogno insulinico giornaliero è influenzato da numerosi fattori (in primis i pasti e l'esercizio fisico) e, per questo, la somministrazione della giusta quantità di insulina necessaria per prevenire l'iperglicemia è associata ad un elevato rischio di ipoglicemia: da questo deriva l'importanza di eseguire un monitoraggio ottimale del controllo glicemico nei pazienti con T1D³².

Attualmente, il livello di controllo glicemico viene monitorato con due modalità, tra loro complementari³⁴:

- a) Valutazione del controllo glicemico a lungo termine, tramite misurazione dell'emoglobina glicata (HbA1c);
- b) Automonitoraggio della glicemia, tramite il *Blood Glucose Monitoring* (BGM) e il *Continuous Glucose Monitoring* (CGM).

2.2.1. Emoglobina glicata (HbA1c)

La misurazione dell'emoglobina glicata (HbA1c) è il metodo standard per valutare il controllo glicemico a lungo termine, sia nella pratica clinica che nei trial clinici, in quanto il valore di HbA1c riflette l'andamento glicemico medio degli ultimi 2-3 mesi ed è strettamente correlato alle complicanze croniche del diabete²⁰.

Dovrebbe essere testata in tutti i soggetti diabetici non solo durante la valutazione iniziale, ma anche regolarmente durante il percorso di *follow-up*: nei pazienti che hanno raggiunto l'obiettivo terapeutico, l'ADA raccomanda la misurazione dell'HbA1c almeno due volte all'anno, mentre è opportuno eseguire test più frequenti (anche ogni 3 mesi) quando il controllo glicemico è inadeguato o se la terapia è stata modificata. Inoltre, poichè l'HbA1c è solo una misura indiretta della glicemia media, alcune condizioni patologiche possono alterarne il valore, portando a risultati confondenti (per esempio, emoglobinopatie, recenti trasfusioni di sangue, insufficienza renale terminale ecc.)²⁰.

Per la maggior parte degli adulti con T1D, l'ADA definisce appropriato un *target* di HbA1c <7,0% (<53 mmol/mol)²⁰, utilizzando standard di laboratorio per il dosaggio dell'HbA1c paragonabili al dosaggio di riferimento utilizzato nel DCCT³⁴.

Potrebbe essere accettabile, e persino vantaggioso, porre un obiettivo glicemico più stringente, nel caso di pazienti particolarmente aderenti al percorso terapeutico e solo se raggiunto in modo sicuro senza ipoglicemie significative o altri effetti collaterali. Al contrario, *target* di HbA1c più alti (<7,5% o <8,0%) possono essere appropriati per individui in cui i rischi di una gestione glicemica più stretta superano i benefici, come nel caso di pazienti anziani, con multiple comorbidità, limitata aspettativa di vita, storia di gravi ipoglicemie o di *hypoglycemia unawareness*²⁴.

Tuttavia, dati provenienti dal *T1D Exchange Clinic Registry* e dal database di raccolta delle cartelle cliniche elettroniche degli Stati Uniti mostrano che la maggior parte degli adulti con T1D, principalmente adolescenti e giovani adulti, non raggiunge l'obiettivo di HbA1c <7%³⁷.

2.2.2. Automonitoraggio della glicemia: BGM e CGM

Nel T1D, il monitoraggio a breve termine del livello di glucosio è essenziale per raggiungere il target di HbA1c nel modo più efficace e sicuro possibile: esso, infatti, consente di correggere dosi e tempi di somministrazione dell'insulina, così come tempi e contenuto dei pasti, basandosi sul feedback immediato della glicemia misurata, oltre a permettere di intervenire tempestivamente in caso di livelli di glucosio bassi o in diminuzione, per evitare gravi eventi ipoglicemici³⁶.

L'automonitoraggio della glicemia può avvenire tramite due sistemi: il *Blood Glucose monitoring* (BGM) e/o il *Continuous Glucose Monitoring* (CGM)³⁶.

Blood glucose monitoring (BGM)

Il *Blood Glucose Monitoring*, talvolta denominato anche *Self-Monitoring of Blood Glucose* (SMBG), consiste nel prelievo di una goccia di sangue capillare, preferibilmente dal dito della mano, e nella successiva misurazione della glicemia utilizzando un dispositivo portatile³².

Coloro che utilizzano il BGM come unico metodo di automonitoraggio della glicemia, dovrebbero eseguire sempre almeno quattro misurazioni al giorno (prima dei tre pasti, per poter regolare la dose di insulina del pasto, e prima di coricarsi) e, occasionalmente, anche dopo i pasti e prima dell'attività fisica; ad ogni modo, tale frequenza è altamente personalizzabile sulla base delle esigenze individuali: per esempio, i pazienti con *hypoglycemia unawareness* necessitano un monitoraggio più frequente. Per di più, anche i pazienti che usano regolarmente il CGM dovrebbero comunque avere in dotazione il dispositivo per eseguire il BGM, in quanto possibili problemi di affidabilità (in particolare nei ranghi ipoglicemici) e di tempi di avvio di alcuni dispositivi CGM non eliminano la necessità di occasionali prelievi di sangue capillare³⁶.

Secondo l'ADA, i target glicemici appropriati per la maggior parte dei pazienti con T1D sono di 80-130 mg/dL (4,4–7,2 mmol/l) per la glicemia capillare preprandiale e <180 mg/dl (<10,0 mmol/L) per quella postprandiale, quest'ultima misurata 1–2 ore dopo l'inizio del pasto in corrispondenza del picco glicemico. Anche in questo caso, si raccomandano obiettivi meno stringenti per chi ha un'aspettativa di vita limitata o quando i danni del trattamento sono maggiori dei benefici³².

Tuttavia, oltre a richiedere al paziente grande impegno nell' eseguire misurazioni molto frequenti, il BGM non è in grado di fornire informazioni precise in merito alle oscillazioni delle concentrazioni di glucosio che si verificano nell'arco della giornata e giorno dopo giorno e, tale variabilità glicemica, è però un fattore predittore indipendente di ipoglicemia grave, specialmente in individui che sperimentano frequentemente bassi livelli di glucosio³⁸.

Continuous glucose monitoring (CGM)

Diversamente dal BGM, il *Continuous Glucose Monitoring* (CGM) permette di migliorare il controllo glicemico a lungo termine, valutare la variabilità della glicemia intra- e inter-giornaliera, valutare le modifiche in risposta alla terapia e, soprattutto, ridurre il rischio di ipoglicemia³⁸.

Per questo, negli ultimi anni, il CGM è diventato il metodo standard per il monitoraggio glicemico nei pazienti con T1D²⁰.

I sistemi CGM misurano il glucosio nel fluido interstiziale, che si trova in equilibrio con il glucosio plasmatico, fornendo così una misura indiretta, ma estremamente realistica, della glicemia; tale rilevazione avviene per mezzo di un sensore enzimatico, posizionato nel sottocute a livello del braccio o dell'addome e cambiato ogni 7-14 giorni dal paziente stesso (*Figura 1*)^{36,39}.



Figura 1: Sensore sottocutaneo per CGM

Attualmente, esistono due tipologie di dispositivi CGM³⁶:

- *Real-time CGM (rtCGM)*: misura il valore di glucosio ogni cinque minuti e lo trasmette automaticamente ad uno specifico ricevitore, ad uno *smartphone* o ad uno *smartwatch*; ciò consente la condivisione dei dati in tempo reale anche con il personale sanitario e i caregivers. In questi dispositivi, inoltre, è possibile impostare allarmi che avvisino il paziente se il glucosio aumenta o diminuisce rapidamente o se si prevede che a breve oltrepassi la soglia prestabilita dell'iperglicemia o dell'ipoglicemia: ciò permette un rapido intervento di correzione dei livelli di glucosio, evitando soprattutto gravi eventi ipoglicemici;
- *Intermittently scanned CGM (isCGM)*: misura il valore di glucosio ogni minuto e registra le misurazioni ogni 15 minuti, ma per vedere le letture di glucosio il paziente deve scansionare il sensore, di solito posizionato sul braccio, con un apposito lettore o con lo *smartphone*. Mentre nei primi modelli di isCGM non erano previsti allarmi per l'iper o l'ipoglicemia, in quello più recente (*FreeStyle Libre 2®*) si possono programmare allarmi personalizzati in corrispondenza di determinate soglie glicemiche.

Confrontando questi due dispositivi alternativi, vari studi randomizzati controllati hanno dimostrato maggiori benefici nell'utilizzo del rtCGM rispetto al isCGM privo di allarme, in termini di raggiungimento del target di HbA1c e di TIR (trattato in seguito) e di riduzione delle ipoglicemie di livello 3⁴⁰. Tuttavia, la scelta del dispositivo dovrebbe comunque sempre basarsi sulle preferenze individuali del paziente, che per esempio potrebbe ritenere particolarmente stressante indossare uno strumento che gli ricordi costantemente della propria patologia e che produca frequenti allarmi sonori³².

Un ulteriore vantaggio del CGM è la possibilità di fare un'analisi retrospettiva dei dati raccolti dal dispositivo, che possa sia aiutare il paziente in una migliore comprensione dell'andamento del proprio percorso di cura, sia guidare il medico specialista verso la migliore decisione terapeutica³².

Per standardizzare il metodo di analisi e interpretazione dei dati ricavati dai sistemi CGM, nel 2012 è stato introdotto il Profilo Glicemico Ambulatoriale (*Ambulatory Glucose Profile*, AGP), un *software* avanzato che riassume statisticamente alcuni dati standardizzati raccolti in più giorni (fino ad un massimo di 90 giorni consecutivi) e li visualizza graficamente⁴¹.

I parametri più importanti nell'interpretazione dell'*AGP report* sono (*Figura 2*)^{32,36}:

- Glicemia media;
- *Time In Range* (TIR): percentuale di tempo trascorso nel range target di glicemie comprese tra 70 e 180 mg/dl (3,9-10 mmol/L); il TIR è associato a complicanze microvascolari e un TIR del 70% è il target da raggiungere negli adulti con T1D, in quanto corrisponde ad un'HbA1c di circa il 7%⁴²;
- Tempo in ipoglicemia (*Time Below Range*, TBR): percentuale di tempo trascorso con glicemie <70 mg/dL (3,9 mmol/L) e <54 mg/dl (3 mmol/L);
- Tempo in iperglicemia (*Time Above Range*, TAR): percentuale di tempo trascorso con glicemie >180 mg/dL (10,0 mmol/L) e >250 mg/dL (13,9 mmol/L);
- Coefficiente percentuale di variazione (%CV): misura la variabilità glicemica;
- *Glucose Management Indicator* (GMI): valore calcolato sulla base della glicemia media rilevata dal sensore nell'arco temporale prestabilito e rappresenta la miglior stima dell'HbA1c a breve termine; il target ottimale da raggiungere è un GMI <7,0% (<53 mmol/mol).

In conclusione, nonostante l'HbA1c rimanga la misura più fortemente associata alle complicanze croniche del diabete e l'unica validata prospetticamente, i dati ricavati dalle nuove tecnologie di monitoraggio della glicemia, in primis il TIR e il GMI, risultano più utili nella gestione clinica perché riflettono livelli di glicemia più recenti e forniscono informazioni cliniche più dettagliate ai fini di un management del T1D più personalizzato³².

AGP Report: Continuous Glucose Monitoring

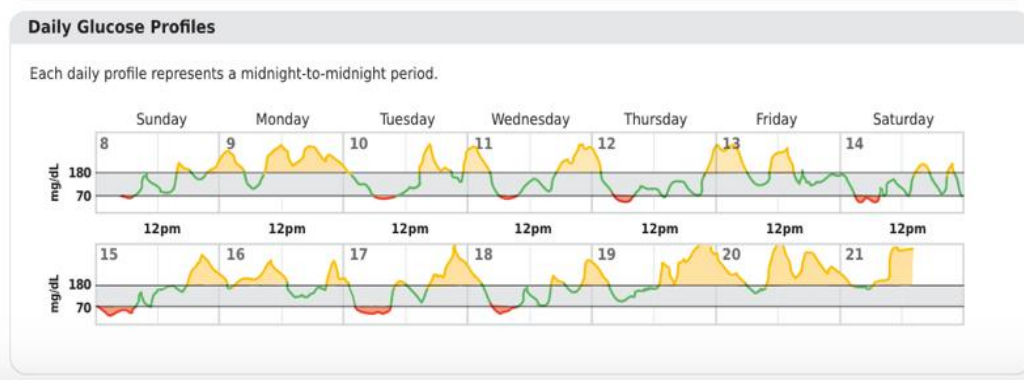
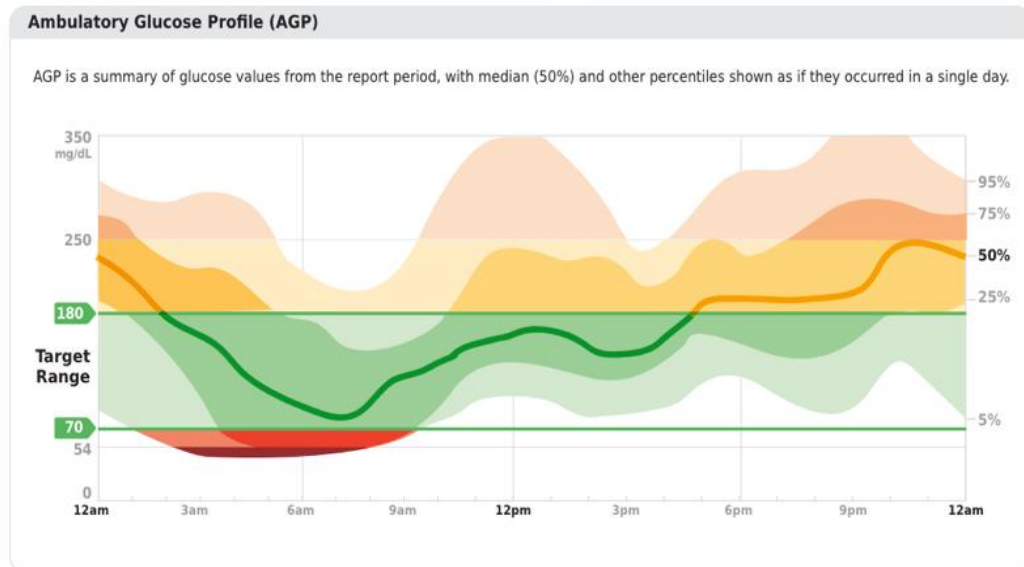
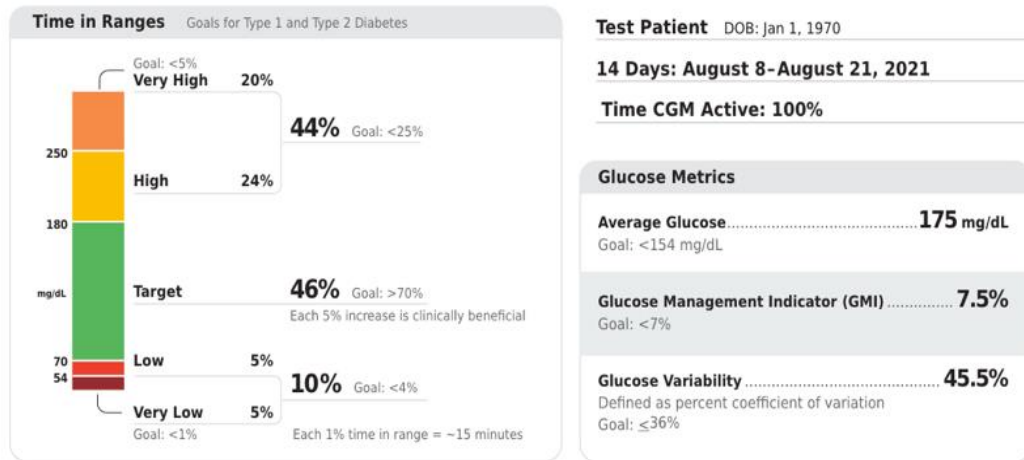


Figura 2 – Esempio di AGP Report

Nella *Tabella II* vengono riassunti tutti gli obiettivi glicemici validi per la maggior parte degli adulti affetti da T1D.

Tabella II – Target glicemici per la maggior parte degli adulti con T1D

Variable	Target value
HbA _{1c}	<53 mmol/mol (<7.0%)
GMI	<53 mmol/mol (<7.0%)
Preprandial glucose	4.4–7.2 mmol/l (80–130 mg/dl)
1–2 h postprandial glucose ^a	<10.0 mmol/l (<180 mg/dl)
TIR	>70%
TBR	
Readings and time <3.9 mmol/l (<70 mg/dl; Level 1 and Level 2 hypoglycaemia) ^b	<4%
Readings and time <3.0 mmol/l (<54 mg/dl; Level 2 hypoglycaemia) ^b	<1%
Time above range	
Readings and time >10.0 mmol/l (>180 mg/dl; Level 1 and Level 2 hyperglycaemia) ^c	<25%
Readings and time >13.9 mmol/l (>250 mg/dl; Level 2 hyperglycaemia) ^c	<5%
Glycaemic variability (%CV) ^d	≤36%

All glycaemic targets should be individualised and agreed with the person with diabetes. Lower or higher targets may be appropriate according to individual characteristics

^a A postprandial glucose target of <7.8 mmol/l (<140 mg/dl) may be recommended if this can be achieved safely. Higher targets in those with limited life expectancy or where the harms of treatment are greater than the benefits are recommended. In some individuals at notably higher risk for Level 3 hypoglycaemia, it may be necessary to increase the glucose target range to decrease the TBR

^b Level 1 hypoglycaemia is defined as blood glucose levels <3.9 to ≥3.0 mmol/l (<70 to ≥54 mg/dl); Level 2 hypoglycaemia is defined as blood glucose levels <3.0 mmol/l (<54 mg/dl)

^c Level 1 hyperglycaemia is defined as blood glucose levels >10.0 to ≤13.9 mmol/l (>180 to ≤250 mg/dl); Level 2 hyperglycaemia is defined as blood glucose levels >13.9 mmol/l (>250 mg/dl)

^d Some studies suggest that lower %CV targets (<33%) provide additional protection against hypoglycaemia

2.3. Terapia insulinica

Poiché nei pazienti con T1D la produzione di insulina endogena è parzialmente o totalmente assente, la terapia insulinica è il *gold standard* per il trattamento di questa patologia, con l'obiettivo di riprodurre, nel modo più fedele possibile, la secrezione insulinica fisiologica, sia nel periodo di digiuno sia in quello in prossimità dei pasti e dell'attività fisica³⁴.

La terapia insulinica deve essere avviata il prima possibile dopo la diagnosi e la dose giornaliera dipende da vari fattori, tra cui l'età, il peso corporeo, la quantità di esercizio fisico, i cambiamenti ormonali, le preferenze individuali ecc³⁸.

Come già accennato, lo studio DCCT/EDIC ha inequivocabilmente dato prova della maggiore efficacia del trattamento insulinico intensivo nel management del T1D, rispetto al regime convenzionale (che di solito includeva una o due iniezioni giornaliere di insulina con test delle urine giornaliero o BGM) nella riduzione delle complicanze vascolari³³; inoltre, è stato dimostrato che un trattamento insulinico più aggressivo iniziato fin dal momento della diagnosi contribuisce a mantenere più a lungo la secrezione endogena di insulina, che è associata ad una HbA1c più bassa e ad un minor rischio di ipoglicemia grave⁴³.

Pertanto, quello che ai tempi del DCCT veniva definito “trattamento insulinico intensivo”, oggi è diventata la terapia standard per la gestione del T1D e comprende due tipologie di regimi insulinici possibili³³:

- a) Iniezioni giornaliere multiple (*Multiple Daily Injections*, MDI) o regime *basal-bolus*;
- b) Infusione sottocutanea continua di insulina (*Continuous Subcutaneous Insulin Infusion*, CSII) o pompa insulinica.

In entrambi i casi, pur offrendo al paziente maggior flessibilità riguardo le abitudini alimentari e la vita sociale, essi richiedono un elevato impegno personale, per il paziente, ed economico, per il Sistema Sanitario³⁴.

2.3.1. Iniezioni giornaliere multiple (MDI)

Il regime insulinico MDI, detto anche regime *basal-bolus*, prevede quattro o più somministrazioni sottocutanee di insulina al giorno, suddivise in³⁸:

- Una o due somministrazioni giornaliere di insulina basale, utilizzando analoghi dell’insulina a lunga durata d’azione (come l’insulina glargine, detemir o degludec) che, avendo un lento assorbimento, consentono di mantenere un livello di glicemia quasi normale nell’arco della giornata e di ridurre il rischio di ipoglicemia, soprattutto nello stato di digiuno;
- Boli preprandiali di analoghi dell’insulina ad azione rapida (come l’insulina aspart, lispro e glulisina), che coprono l’aumentato fabbisogno di insulina dopo il pasto e riducono le escursioni della glicemia dovute all'assorbimento del cibo.

L'insulina iniettabile è disponibile sotto forma di fiale oppure di “penne” pre-riempite, quest'ultime preferibili perché riducono gli errori nella preparazione della corretta dose di insulina da somministrare; inoltre, l'efficacia farmacologica è strettamente dipendente dalla tecnica di iniezione utilizzata: per esempio, si raccomanda di utilizzare l'ago più corto disponibile (4mm), per non rischiare di fare un'iniezione intramuscolare, e di scegliere un sito di iniezione che sia pulito, privo di infiammazione, infezione o fibrosi e di cambiarlo frequentemente per evitare la comparsa di lipodistrofie⁴⁴.

In generale, i soggetti con T1D richiedono da 0,4 a 1 U/kg/die di insulina totale, di cui circa il 50% somministrato come insulina basale.

La dose di insulina preprandiale si basa su algoritmi personalizzati: per prima cosa, il paziente deve determinare la dose di insulina sulla base della quantità di carboidrati che prevede di assumere con l'imminente pasto, utilizzando il rapporto insulina/carboidrati (per il T1D spesso è di 1 unità/10-15g di carboidrati), poi deve aggiungere una dose di insulina, detta “di correzione”, a seconda del livello di glicemia preprandiale (per cui esistono diverse formule); infine, questi calcoli devono essere corretti in base alla sensibilità insulinica individuale³⁴.

Inoltre, in caso di necessità, boli di correzione straordinari possono essere somministrati anche in caso di iperglicemia non intenzionale, chetonuria significativa o chetonemia³⁸.

Qualora un individuo in terapia con MDI non riesca a raggiungere gli obiettivi di HbA1c, sperimenti gravi episodi di ipoglicemia oppure abbia difficoltà ad eseguire multiple iniezioni giornaliere di insulina, è opportuno valutare il passaggio alla terapia con CSII³⁸.

2.3.2. Infusione sottocutanea continua di insulina (CSII) o pompa insulinica

La terapia con infusione sottocutanea continua di insulina (CSII), nota anche come “pompa insulinica”, fornisce un'infusione sottocutanea di un analogo dell'insulina ad azione rapida o ultrarapida sotto forma di mini-boli erogati ogni cinque minuti, coprendo così il fabbisogno basale di insulina giornaliero; in aggiunta, il dispositivo

rilascia boli di insulina pre-prandiali, per minimizzare le escursioni glicemiche dopo i pasti⁴⁵.

Questo metodo di somministrazione dell'insulina, quindi, è quello che meglio simula il modello fisiologico di secrezione insulinica e, per questo, è un regime molto efficace per i pazienti con T1D³⁸.

La pompa insulinica tradizionale, anche detta microinfusore, è costituita da un dispositivo portatile alimentato a batteria, dotato di uno schermo programmabile e di un serbatoio per l'insulina collegato, tramite un tubicino, ad un ago inserito sottocute (*Figura 3*)⁴⁶. In alternativa, è possibile scegliere la cosiddetta *patch pump*, in cui il reservoir dell'insulina e il set di infusione sono contenuti in un unico dispositivo indossabile usa e getta (*pod*), che viene cambiato ogni due o tre giorni; in questo caso, la somministrazione di insulina è controllata in modalità wireless da un "controller" portatile o da uno smartphone compatibile (*Figura 4*)^{45,47}.

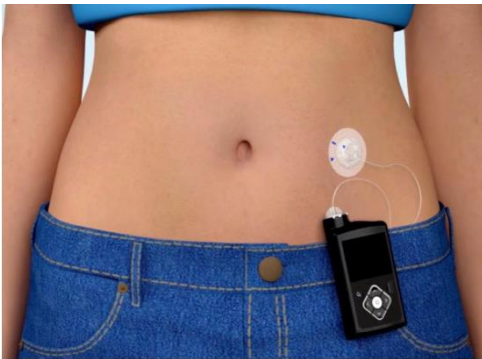


Figura 3 – Pompa insulinica tradizionale



Figura 4 – Patch pump

Negli adulti con T1D, le dosi basali di insulina vanno mediamente da 0,01 a 0,015 U/kg/h, ma possono anche essere regolate manualmente su base oraria per ottimizzare il controllo glicemico in diverse situazioni, quali il periodo notturno, durante l'attività fisica o in presenza di altre patologie intercorrenti che alterano il metabolismo glucidico. Come accennato, oltre a provvedere all'infusione di insulina basale, la pompa insulinica eroga anche dei boli di insulina prima dei pasti, la cui dose è calcolata in base alla glicemia preprandiale, al contenuto glucidico previsto per l'imminente pasto e l'eventuale attività fisica recente o pianificata^{38,45}.

Si deduce, quindi, come la CSII sia un metodo estremamente preciso, flessibile e personalizzato per somministrare insulina³⁸, capace di ridurre i livelli di HbA1c in modo più efficace rispetto alla MDI, senza aumentare il rischio di ipoglicemia⁴⁸. In ogni caso, la selezione dei pazienti deve essere molto accurata e valutata da un team multidisciplinare, anche dal punto di vista dell'impatto psicologico³⁸.

Con l'avanzamento delle nuove tecnologie, poi, sono state sviluppate innovative tipologie di pompe insuliniche con l'obiettivo di rendere la terapia insulinica sempre più automatizzata e meno dipendente dalle azioni del paziente³⁸.

Sensor-augmented insulin pump (SAP)

La *Sensor-Augmented insulin Pump* (SAP), o sistema *non-closed loop*, è una tipologia di pompa insulinica con sensore CGM integrato in un unico dispositivo, così da consentire al paziente di modificare manualmente la quantità di insulina da infondere a seconda dei valori rilevati dal CGM⁴⁹. Inoltre, il SAP è programmato per sospendere automaticamente l'infusione di insulina (per massimo 2h) quando la glicemia rilevata dal sensore CGM scende al di sotto di una determinata soglia (*low glucose threshold suspend*) oppure quando l'andamento dei valori al CGM prevedono che a breve si verificherà un'ipoglicemia (*predictive low glucose suspend*)⁴⁵. L'impiego di questo dispositivo ha dimostrato un miglioramento significativo nei livelli di HbA1c⁵⁰ e, soprattutto, una riduzione degli episodi di ipoglicemia notturna⁵¹.

Sistema *closed-loop* o pancreas artificiale

I sistemi *closed-loop* si differenziano dal sistema SAP e dalla terapia con microinfusore di insulina convenzionale poiché, in un unico dispositivo, sono contenuti il CGM, la pompa di insulina e un *controller* capace di interpretare i livelli di glucosio nel sangue in tempo reale e di aggiustare la somministrazione di insulina utilizzando un algoritmo preimpostato: in questo modo, come dice il nome appunto, si "chiude il ciclo" e la somministrazione di insulina è automatizzata, senza necessità di intervento esterno da parte del paziente (*Figura 5*)³⁸.

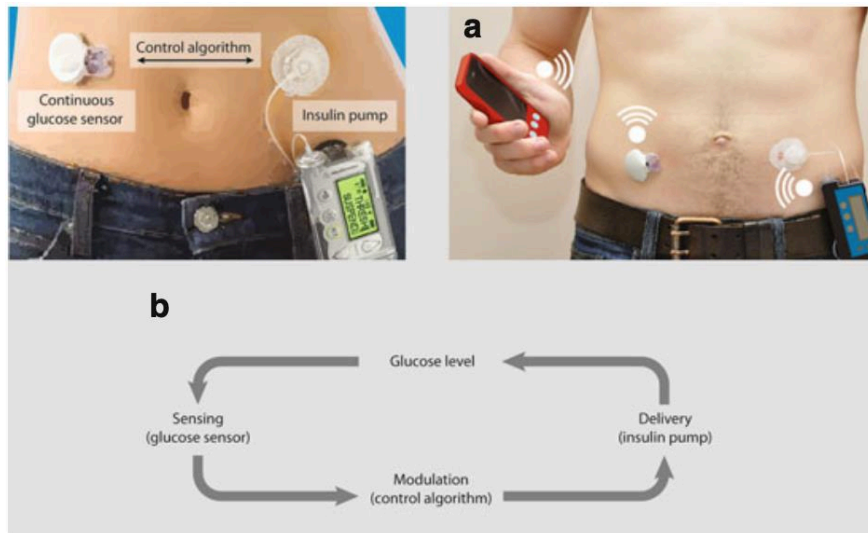


Figura 5 – Rappresentazione illustrativa di un closed-loop system

In realtà, i tre dispositivi di questo tipo che sono attualmente in commercio negli Stati Uniti vengono detti sistemi *closed-loop* “ibridi” o “parziali”, perché richiedono ancora l’intervento del paziente per somministrare manualmente i boli di insulina pre-prandiale³⁸.

È, invece, ancora in fase di studio il sistema *closed-loop* completamente automatizzato, ovvero un vero e proprio pancreas artificiale capace di calibrare automaticamente la somministrazione di insulina in base ai livelli di glucosio in qualsiasi momento della giornata: questa soluzione non solo permette di aumentare il TIR e diminuire il tempo trascorso in ipo e iperglicemia⁴⁹, ma anche, non richiedendo più il conteggio preprandiale dei carboidrati, elimina una delle principali difficoltà attuali per il paziente nell’uso del microinfusore di insulina. Tuttavia, appunto, non è ancora in commercio⁴⁵.

2.3.3. Limiti della terapia insulinica

A partire dalla scoperta dell’insulina nel 1922, un gran numero di pazienti diabetici è sopravvissuto grazie alla terapia insulinica. Tuttavia, a prescindere dal regime insulinico e dalla modalità di somministrazione che vengono scelti, le iniezioni quotidiane di insulina non possono corrispondere in modo preciso alla natura pulsatile e oscillatoria della secrezione insulinica fisiologica, né possono soddisfare le variazioni glicemiche, difficilmente prevedibili, causate dall’assunzione di cibo, dall’esercizio fisico e dallo stress.

Pertanto, nonostante un trattamento insulinico intensivo, attualmente la maggior parte degli individui con T1D non riesce a mantenere il livello di glicemia all'interno del range di normalità in ogni momento della giornata e, soprattutto, senza correre il rischio di episodi ipoglicemici gravi⁵².

Dalla necessità di trovare una soluzione che regoli istante per istante la secrezione di insulina in base alle esigenze del paziente, proprio come avviene fisiologicamente all'interno delle β -cellule del pancreas, è nata l'idea del pancreas artificiale: esso, tuttavia, si sta dimostrando non privo di rischi, correlati a possibili problemi tecnici dei singoli componenti (guasto della pompa, problemi con il set di infusione, errori del sensore) che possono portare ad una somministrazione eccessiva o insufficiente di insulina, causando episodi di grave ipoglicemia o chetoacidosi. A supporto di ciò, uno studio trasversale su 68 adulti⁵³ ha riportato 5 episodi di ipoglicemia grave durante il periodo di trattamento con il *closed-loop system* (rispetto ai soli 3 episodi nel periodo di controllo), causati da un bolo eccessivo somministrato dall'utente (superando le raccomandazioni del sistema, n=1), da una mancata comunicazione tra i componenti del device (n=1) o da un malfunzionamento della pompa (n=3)⁵⁴. Inoltre, il disagio psicologico lamentato da molti pazienti nel dover costantemente indossare un dispositivo compromettente l'immagine corporea, spesso ingombrante e con allarmi intrusivi, rappresenta un'ulteriore barriera significativa nell'impiego clinico di tali innovative tecnologie per il diabete⁵⁴.

3. TERAPIA SOSTITUTIVA CON β -CELLULE NEL T1D

Qualora il trattamento insulinico intensivo non risulti sufficiente per un'efficace gestione del diabete di tipo 1, un approccio alternativo è rappresentato dalla terapia sostitutiva con β -cellule pancreatiche: ripristinando la funzione endocrina del pancreas grazie ad "nuovo" patrimonio cellulare, essa permette di ristabilire il controllo fisiologico della glicemia andando ben oltre ogni forma di controllo metabolico farmacologico, anche quando di tipo ottimale, e può rappresentare l'equivalente di una vera e propria cura per il T1D^{55,52}.

Gli obiettivi del trapianto di β -cellule pancreatiche nei pazienti con T1D sono ripristinare la normoglicemia, prevenire efficacemente l'ipoglicemia e stabilizzare, se non addirittura ridurre, la progressione delle complicanze croniche secondarie, ottenendo così un miglioramento complessivo della qualità della vita. Allo stesso tempo, tale alternativa richiede un'immunosoppressione sistemica cronica per prevenire il rigetto allogenico, pertanto le indicazioni devono bilanciare accuratamente rischi e benefici, tenendo in considerazione anche i fattori psicologici³².

Una particolare condizione che accomuna i pazienti con T1D a cui viene indicata la terapia sostitutiva con β -cellule è la cosiddetta "ipoglicemia problematica", definita come due o più episodi all'anno di ipoglicemia severa (livello 3) oppure come un solo episodio associato a ridotta consapevolezza dell'ipoglicemia (*hypoglycemia unawareness*), estrema labilità glicemica (fenotipo del *brittle diabetes*) o severa ansia associata a comportamenti disfunzionali.

L'*hypoglycemia unawareness* viene valutata tramite questionari che valutano la soglia di glucosio alla quale si verifica il riconoscimento dei sintomi ipoglicemici: il questionario di Clarke valuta le soglie sia a 50 mg/dL (2.8 mmol/L) sia a 60 mg/dL (3.3 mmol/L), mentre quello di Gold valuta una soglia intermedia di 54 mg/dL (3.0 mmol/L); entrambi i questionari possono arrivare ad un punteggio massimo pari a 7 e un punteggio ≥ 4 è indicativo di *hypoglycemia unawareness*.

Il *brittle diabetes* è un particolare fenotipo di T1D caratterizzato da grave instabilità glicemica, con frequenti e imprevedibili episodi di ipoglicemia e/o DKA che richiedono spesso ricoveri frequenti e prolungati⁵⁶.

Le due tipologie di terapia sostitutiva con β -cellule che possono essere proposte ad un paziente con T1D sono il trapianto di pancreas completo e il trapianto di insule pancreatiche; in presenza di una concomitante malattia renale allo stadio terminale, entrambe le tecniche possono essere combinate con il trapianto di rene, eseguito simultaneamente o successivamente³². Le attuali indicazioni per guidare la scelta tra le diverse opzioni di terapia sostitutiva con β -cellule nei pazienti con T1D sono riassunte nella *Figura 6*³² e verranno approfondite in ciascun paragrafo dedicato.

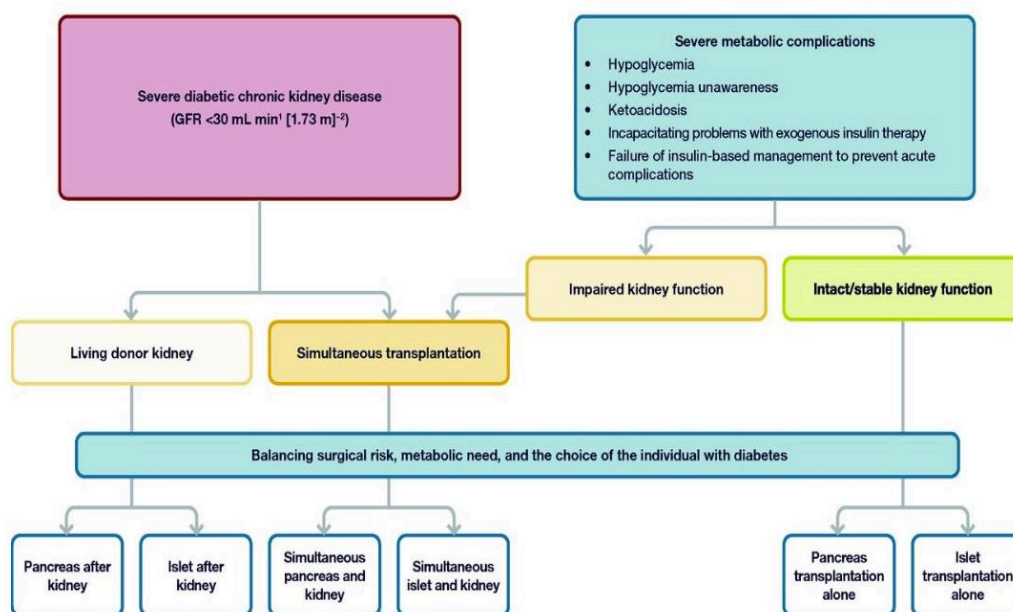


Figura 6 – Panoramica delle indicazioni per la terapia sostitutiva delle β -cellule nei pazienti con T1D

3.1. Trapianto di pancreas

3.1.1. Storia

Il primo trapianto di pancreas nell'essere umano è stato realizzato nel 1966, da William D. Kelly e Richard C. Lillihei nell'Università del Minnesota (USA), in un paziente con diabete di tipo 1 e nefropatia allo stadio terminale: l'intervento, eseguito simultaneamente al trapianto di rene, ha portato ad un'immediata indipendenza dall'insulina e il *graft* risultava ancora funzionante dopo due mesi, quando il ricevente è morto per una sepsi legata a complicanze chirurgiche.

A quell'epoca, infatti, i tassi di sopravvivenza dell'organo trapiantato e dei pazienti erano piuttosto bassi, per cui venivano eseguite pochissime procedure; in seguito, con l'introduzione di più efficaci regimi immunosoppressivi (soprattutto i farmaci inibitori della calcineurina) e di nuove tecniche chirurgiche e con la selezione di pazienti riceventi più sani, si è assistito ad un miglioramento dei risultati chirurgici e, così, il numero di procedure eseguite ha iniziato ad aumentare⁵⁷.

Negli ultimi 30 anni, sono stati eseguiti più di 31.000 trapianti di pancreas negli Stati Uniti e attualmente tale trapianto è considerato un intervento chirurgico definitivo per la cura del diabete, poiché è in grado di ripristinare, nel modo più fedele possibile, la normale fisiologia del glucosio⁵⁸.

3.1.2. Trapianto di pancreas simultaneo a rene (SPK) o dopo rene (PAK)

La maggior parte dei trapianti di pancreas viene eseguita contemporaneamente (*Simultaneous Pancreas-Kidney transplant*, SPK) o successivamente al trapianto di rene (*Pancreas-After-Kidney Transplant*, PAK) in pazienti con T1D e nefropatia diabetica allo stadio terminale, poiché tale combinazione eseguita con successo non compromette la sopravvivenza del paziente, può migliorare quella del rene trapiantato e permette di ristabilire la normoglicemia⁵⁹.

Le indicazioni per il trapianto SPK e PAK sono ormai chiaramente stabilite⁶⁰: entrambe sono opzioni terapeutiche per pazienti con T1D di difficile gestione e malattia renale cronica avanzata o allo stadio terminale⁶¹.

Il trapianto SPK è il *gold standard* per questi pazienti, in assenza di particolari controindicazioni (come neoplasie, infezioni croniche, insufficiente self-management), e viene eseguito molto più frequentemente rispetto al PAK, in quanto eseguire una singola procedura chirurgica e un'unica induzione della terapia immunosoppressiva permette di ottenere risultati nettamente superiori, in termini di sopravvivenza sia del ricevente, sia del *graft* pancreatico; inoltre, i pazienti sottoposti a trapianto SPK hanno dimostrato un miglioramento dell'ipoglicemia problematica per più di un decennio^{32,62}.

Un'altra opzione terapeutica è il trapianto simultaneo di pancreas da donatore deceduto e rene da donatore vivente (SPLK), indicato per coloro che si trovano da molto tempo in lista d'attesa per un donatore deceduto e hanno a disposizione un donatore di rene vivente.

Il trapianto PAK, invece, è indicato per i pazienti con T1D che hanno difficoltà a raggiungere *target* glicemici adeguati o a gestire le complicanze croniche del diabete e che, in passato, si sono già sottoposti con successo ad un trapianto di rene da un donatore vivente o deceduto. Requisito essenziale per poter eseguire questo intervento è la presenza di un *graft* renale ben funzionante (eGFR di almeno 40-45 ml/min/1.73m²), che sia in grado di tollerare le potenziali complicanze perioperatorie del trapianto di pancreas e l'intensa immunosoppressione ad esso associata, senza esporre il paziente al rischio di sviluppare nuovamente insufficienza renale a lungo termine⁶².

Dal punto di vista della sopravvivenza del paziente, i risultati sono simili tra il trapianto SPK e PAK, dimostrando un chiaro beneficio rispetto a coloro che rimangono in dialisi o ricevono un trapianto di rene da solo⁶³.

Per quanto riguarda la sopravvivenza del *graft* pancreatico, alcuni centri riportano dati simili tra trapianto PAK e SPK, mentre altri evidenziano una sopravvivenza minore nei casi di PAK rispetto a SPK (a 10 anni 45% vs 58%, rispettivamente): si ipotizza che, nella tecnica SPK, la possibilità di biopsiare il rene come *marker* surrogato del rigetto del *graft* pancreatico sia il motivo chiave che giustifica queste differenze nella sopravvivenza del *graft*, anche se nelle biopsie simultanee dei *graft* nel SPK solo il 40% dei pazienti ha presentato rigetto simultaneo (mentre il 34% e il 27% ha mostrato rigetto rispettivamente solo del rene o del pancreas)⁶².

È consigliato inviare alla valutazione per un trapianto SPK o PAK tutti i pazienti affetti da T1D e malattia renale avanzata con un eGFR <30 ml/min/1,73m² o con un rapido declino della funzionalità renale (definito come perdita di GFR >5 mL/min/1,73m² per anno). Un invio precoce da parte del nefrologo consente di avere il tempo adeguato per eseguire un'adeguata valutazione pre-trapianto, per gestire eventuali controindicazioni all'intervento e, non ultimo, per far prendere al paziente più consapevolezza possibile nei confronti del percorso che dovrà affrontare; inoltre, qualora vi fosse la possibilità, può permettere di eseguire un trapianto *preemptive*, ovvero prima dell'inizio della dialisi, capace di migliorare la sopravvivenza del paziente e del *graft*, risparmiando al paziente le complicanze legate alla procedura di dialisi⁶².

3.1.3. Trapianto di solo pancreas (PTA)

Indicazioni all'intervento

I pazienti affetti da T1D che presentano funzionalità renale conservata possono essere candidati al trapianto di solo pancreas (*Pancreas Transplant Alone*, PTA). Mentre le indicazioni per il trapianto SPK e PAK storicamente sono sempre state ben delineate, quelle per il PTA sono state proposte per la prima volta nel 2000 dall'*American Diabetes Association* e comprendono tre criteri fondamentali, di cui almeno uno deve essere presente⁶⁰:

- a) Storia di frequenti, acute e gravi complicanze metaboliche (ipoglicemia, iperglicemia, chetoacidosi), che richiedono attenzione medica;
- b) Problemi clinici ed emotivi, nei confronti della terapia insulinica esogena, così gravi da risultare invalidanti;
- c) Costante fallimento della terapia basata sull'insulina nel prevenire le complicanze acute, anche facendo uso dei dispositivi tecnologici.

Il PTA richiede un intervento chirurgico maggiore e l'assunzione di terapia immunosoppressiva a vita, pertanto attualmente nella pratica clinica è indicato solo nei pazienti con gravi complicanze del T1D o che soffrono di eventi ipoglicemici gravi, non riconosciuti o incontrollabili che mettono a rischio la loro sopravvivenza⁵⁸.

Inoltre, mentre originariamente il trapianto di pancreas era considerato esclusivo per pazienti con T1D, dato l'aumento della variabilità fenotipica tra le diverse tipologie di diabete, oggi l'indicazione si è estesa anche ad alcuni pazienti con diagnosi di T2D particolarmente selezionati: si tratta di pazienti non obesi, in trattamento insulinico e con bassi livelli di C-peptide (ovvero bassa insulino-resistenza), ovvero con un fenotipo di T2D molto più simile al tipo 1⁶³.

Selezione dei riceventi

La selezione dei pazienti prevede una valutazione medica completa prima del trapianto, eseguita da un team multidisciplinare che conferma la diagnosi di T1D, determina l'idoneità chirurgica e anestesiológica del paziente, stabilisce l'assenza di eventuali criteri di esclusione, documenta il grado delle complicanze croniche per un successivo confronto dopo il trapianto e valuta la compliance del paziente, elemento importante per la gestione della terapia immunosoppressiva⁶³.

In particolare, i fattori determinanti nella selezione dei riceventi per PTA sono^{57,58}:

- Valutazione della funzionalità renale: per candidare un paziente al PTA è necessaria una eGFR >60-70 ml/min/1,73m², considerata la nefrotossicità della terapia immunosoppressiva;
- Valutazione del rischio cardiovascolare: è forse l'elemento più importante nel processo di selezione dei riceventi, poiché la malattia coronarica, soprattutto quella silente, non è per nulla rara nella popolazione diabetica;
- Età: la sopravvivenza del paziente e del *graft* è scarsa in riceventi di età superiore ai 60 anni ed è ridotta tra i 50 e i 59 anni;
- BMI (*Body Mass Index*): la maggior parte dei centri adotta come valore soglia un valore di BMI <30 kg/m², in quanto l'obesità è uno dei principali fattori di rischio per lo sviluppo di complicanze post-operatorie.

I principali criteri di esclusione, adottati nella maggior parte dei centri, sono: l'età avanzata (>65 anni), il fumo pesante, una frazione di eiezione ventricolare sinistra <40%, un recente infarto miocardico, l'ipertensione polmonare grave (pressione arteriosa polmonare >45-50 mmHg) e l'obesità (BMI >35 kg/m²)⁶³.

È evidente, quindi, che il ricevente ottimale per un trapianto di solo pancreas è un paziente piuttosto *fit*, relativamente giovane (<50 anni), che non presenta obesità (<30 kg/m²) né malattia cardiovascolare. Questi criteri di selezione minimizzano la mortalità operatoria (<1%) e riducono la perdita precoce del *graft* pancreatico (<10%)³².

Selezione dei donatori

La ricerca di un donatore ideale per il pancreas segue criteri simili a quelli per altri trapianti di organi solidi e, nella maggior parte dei casi, è un paziente deceduto dopo morte cerebrale (*Donation after Brain Death*, DBD). Nel trapianto di pancreas a organo solido, l'obesità del donatore è il principale motivo di rifiuto del *graft* pancreatico, in quanto la steatosi pancreatica è associata a pancreatite del *graft* e successive complicanze, quali fistole pancreatiche⁶⁴.

Il donatore definito "ideale" per il PTA, quindi, è una persona deceduta per trauma cranico, di età compresa fra i 5 e i 45 anni, con BMI <30 kg/m², emodinamicamente stabile (con uso di amine vasoattive a dosaggi minimi) e senza storia di malattie, traumi o chirurgia pancreatica⁵⁵: si tratta, tuttavia, di indicazioni piuttosto stringenti, spesso non sufficienti a soddisfare l'attuale domanda di trapianti di pancreas, dovendosi accontentare dei cosiddetti donatori "marginali". Per questo, sono stati sviluppati due score prognostici, il *Pre-Procurement Pancreas Suitability Score* (P-PASS, *Tabella III*⁶⁵) e il *Pancreas Donor Risk Index* (PDRI), in grado di valutare l'idoneità del donatore sulla base di alcuni parametri oggettivi e di prevedere a priori la sopravvivenza del *graft* nel ricevente: uno studio condotto da Eurotransplant raccomanda di scegliere donatori di pancreas con un P-PASS <17, così come un aumento del PDRI è stato associato ad una riduzione significativa della sopravvivenza del *graft* pancreatico a 1 anno^{66,65}.

Tabella III – Composizione del P-PASS score come stabilito dall' Eurotransplant Pancreas Advisory Committee

Donor Characteristic	1 Point	2 Points	3 Points
Age (y)*	<30	30–40	≥40
BMI (kg/m ²)*	<20	20–25	≥25
ICU stay (d)	<3	3–7	≥7
Cardiac arrest (min)	No	Yes, <5	Yes, ≥5
Sodium (mmol/L)	<155	155–160	≥160
Amylase (U/L) or	<130	130–390	≥390
Lipase (U/L)	<160	160–480	≥480
(Nor)adrenaline (γ) or	No	<0.05 gamma	≥0.05
dobuta-/dopamine (γ)	No	<10	≥10
Total points	9	18	27

P-PASS, preprocurement pancreas suitability score; BMI, body mass index; ICU, intensive care unit.

*Points given are multiplied by two.

Tecnica chirurgica

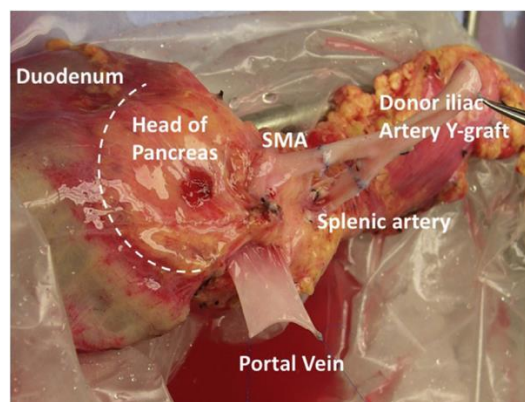
Dopo il prelievo del pancreas da un donatore deceduto e la sua preparazione *ex vivo* al banco (*back-table*), il ricevente viene preparato per l'intervento.

Solitamente, viene praticata un'incisione laparotomica mediana, estesa da poco sotto lo xifoide a poco sopra la sinfisi pubica, e le arterie iliache vengono subito esposte; il trapianto di pancreas è eterotopico e l'organo viene solitamente posizionato in fossa iliaca destra, posizione che permette di prevenire l'eccessivo allungamento dell'anastomosi venosa⁵⁷.

La tecnica chirurgica prevede i seguenti passaggi⁶⁷:

- Anastomosi venosa per il drenaggio endocrino: esso può essere di tipo sistemico, quando la vena porta del donatore è anastomizzata alla vena cava inferiore o alla vena iliaca esterna o comune del ricevente, oppure di tipo portale, quando la vena porta del donatore è anastomizzata alla porzione prossimale della vena mesenterica superiore del ricevente. Dal punto di vista teorico, il drenaggio endocrino portale consente un effetto più fisiologico di “primo passaggio” attraverso il fegato, evitando lo sviluppo di iperinsulinemia; tuttavia, studi a lungo termine che confrontano le due tecniche non hanno dimostrato chiari vantaggi con il drenaggio portale, per cui oggi la maggior parte dei trapianti di pancreas avviene con drenaggio venoso sistemico, il quale minimizza il rischio di trombosi.

- Anastomosi arteriosa per la rivascularizzazione dell'organo: il *graft* arterioso a “Y” del donatore viene suturato all’arteria iliaca comune del ricevente. Il *graft* a “Y” (*Figura 7*)⁵⁸ viene costruito durante la fase di *back-table* utilizzando il *graft* dell’arteria iliaca comune del donatore a livello della sua biforcazione nei suoi due rami iliaci interno ed esterno⁶⁸: l’arteria mesenterica superiore del pancreas del donatore viene anastomizzata con l’arteria iliaca esterna del *graft* iliaco, mentre l’arteria splenica con l’arteria iliaca interna dello stesso *graft* iliaco; in questo modo si ottiene un unico *graft* iliaco comune da anastomizzare all’arteria iliaca comune del ricevente.



*Figura 7 – Preparazione del graft iliaco a “Y” al back-table.
SMA, arteria mesenterica superiore*

- Anastomosi per il drenaggio esocrino^{55,69}: le secrezioni pancreatiche esocrine possono essere drenate per via urinaria oppure enterale. Il drenaggio vescicale era la tecnica più utilizzata fino a fine anni '90, perché è tecnicamente sicura, consente di gestire piccoli sanguinamenti decomprimendo la vescica con un catetere e permette di dosare l’amilasi urinaria come marker per la diagnosi di rigetto; tuttavia, esso non è fisiologico ed è associato a frequenti complicanze urinarie (infezioni, ematuria ecc.) e metaboliche (acidosi metabolica e disidratazione). Pertanto, oggi si preferisce predisporre un drenaggio enterico, eseguendo un’anastomosi duodeno-digiunale (più frequente), duodeno-duodenale (posizionando il pancreas con orientamento cefalico) o duodeno-gastrica.

Complicanze

Nonostante il miglioramento della tecnica chirurgica avvenuto negli anni, le complicanze post-operatorie nel trapianto di pancreas sono ancora comuni, motivo per cui nell'89% dei casi è richiesta l'esecuzione di una TC di monitoraggio post-operatorio, con lo scopo di valutare la perfusione del *graft* e identificare precocemente eventuali complicanze.

Le complicanze principali sono^{57,70}:

- Trombosi del *graft*: è la complicanza chirurgica più frequente, si verifica in circa il 9% dei PTA e ha come fattore di rischio principale l'elevato BMI del ricevente; può colpire i vasi arteriosi o venosi e può essere parziale o completa, portando talvolta alla rapida perdita del *graft*;
- Emorragia: è la prima causa di re-intervento nel primo periodo post-operatorio e può essere di tre tipologie:
 - Intra-addominale: solitamente di natura chirurgica, per danneggiamento dei vasi peripancreatici o delle anastomosi vascolari, in associazione alla profilassi anticoagulante post-operatoria;
 - Vescicale: tipica dei riceventi con drenaggio vescicale, l'emorragia si manifesta con ematuria associata a complicanze duodenali;
 - Digestiva: tipica dei riceventi con drenaggio enterico, l'emorragia di solito si verifica a livello della linea di sutura dell'anastomosi enterica, a causa della ridotta perfusione del *graft* o di ulcere anastomotiche, e si manifesta come emorragia gastrointestinale inferiore.
- Pancreatite del *graft*: la forma precoce si manifesta con un aumento prolungato delle amilasi associato a dolore addominale e può essere dovuta a fattori correlati al donatore (come instabilità emodinamica o somministrazione di farmaci vasopressori) o a danni da ischemia-riperfusion; la forma tardiva è, invece, una pancreatite da reflusso causata da ritenzione urinaria nei riceventi con drenaggio vescicale. La pancreatite del *graft* può andare incontro a complicanze (quali ascesso pancreatico, necrosi, infezione peri-*graft*, pseudocisti) e può essere trattata con analoghi della somatostatina;

- Infezione intra-addominale: è una complicanza estremamente pericolosa che incide significativamente sulla sopravvivenza del paziente e del *graft* ed è solitamente causata da *Staphylococcus* o da *Candida albicans*. Inoltre, può portare alla formazione di pseudoaneurismi micotici, che richiedono quasi sempre la pancreatectomia del *graft*;
- Fistola anastomotica: a livello dell'anastomosi enterica, spesso causa di infezione intra-addominale;
- Fistola artero-venosa: a livello del sito di legatura dei vasi mesenterici;

Questa potenziale morbilità chirurgica preclude l'offerta del trapianto di pancreas ad un numero piuttosto significativo di pazienti diabetici che potrebbero beneficiare della terapia sostitutiva della β -cellule pancreatiche.

Outcome

La sopravvivenza a 4 anni dei pazienti che ricevono un PTA è del 90,5% ed è superiore a quella dei pazienti che rimangono in lista d'attesa (87,3%), a dimostrazione che l'intervento chirurgico e l'immunosoppressione a vita rappresentano fattori di rischio minori per la sopravvivenza rispetto alle complicanze croniche legate al fenotipo di *brittle diabetes*⁶⁰.

Dal punto di vista degli *outcome* metabolici, il PTA ha dimostrato di ripristinare l'euglicemia e, con essa, l'indipendenza dalla terapia insulinica, permettendo ai pazienti di vivere più a lungo e con una migliore qualità di vita⁶⁴; in particolare, il PTA si è dimostrato capace di garantire l'indipendenza insulinica per a 5 e 10 anni rispettivamente nel 55% e 50% dei casi⁶⁰.

Tuttavia, la valutazione dei risultati dei PTA non dovrebbe prendere in considerazione solo l'efficacia nel controllo glicemico a breve o lungo termine, ma anche l'effetto sulla storia naturale delle complicanze croniche del diabete. Quanto alle complicanze macrovascolari, i fattori di rischio cardiovascolare, il profilo lipidico (colesterolo totale e LDL) e la pressione sanguigna migliorano significativamente a 5 anni dal PTA⁶⁰; quanto a quelle microvascolari, oltre ad un miglioramento della retinopatia e della neuropatia⁵⁸, è stato dimostrato che il PTA è in grado di far regredire la nefropatia diabetica, sviluppata sui reni nativi, dopo aver raggiunto la normoglicemia da almeno cinque anni post-trapianto⁷¹.

3.2. Trapianto di insule pancreatiche

3.2.1. Storia

I primi tentativi di trapianto di insule pancreatiche risalgono al 1890, circa 30 anni prima della scoperta dell'insulina, quando Watson-Williams trapiantò tre frammenti di pancreas di pecora nel tessuto sottocutaneo di un ragazzo di 13 anni, in fin di vita per chetoacidosi diabetica: tuttavia, poiché a quel tempo il concetto di tolleranza immunologica non era ancora ben chiaro, non venne utilizzata alcuna terapia immunosoppressiva, ed il tessuto trapianto andò rapidamente incontro a rigetto.

Nel 1916, il chirurgo pioniere Frederick Charles Pybus tentò il primo trapianto allogenico di tessuto pancreatico, trapiantando frammenti di pancreas umano nel tessuto sottocutaneo di due pazienti diabetici ottenendo una riduzione della glicosuria in uno di loro^{72,73}.

Successivamente, alla fine degli anni '60, Paul E. Lacy iniziò per la prima volta ad eseguire trapianti sui topi utilizzando insule isolate dal pancreas, anziché porzioni di tessuto come fatto fino ad allora. Da quel momento, è iniziata la ricerca della migliore tecnica da utilizzare per estrarre le insule dal pancreas, a partire dall'uso di collagenasi batteriche derivate dal *Clostridium histolyticum*, capaci sì di ottenere la separazione completa delle insule dal tessuto esocrino circostante, ma a spese di un'abbondante distruzione delle prime; studi successivi scoprirono che le insule potevano essere separate dal tessuto acinare digerito per differenza di densità, sfruttando gradienti discontinui di saccarosio, poi sostituiti con un polimero ad alto peso molecolare di saccarosio (*Ficoll*). Successivamente, Horaguchi e Merrell prima, e poi Noel et al., capirono che il metodo più efficace per isolare le insule era l'iniezione intraduttale di collagenasi direttamente nel dotto pancreatico, che permetteva di recuperare fino al 57% della massa totale delle insule; risultati ancora migliori furono ottenuti da Laket et al. con la somministrazione retrograda intraduttale di *Liberase-HI* utilizzando un sistema di perfusione controllata in ricircolo e ottenendo, così, una migliore separazione delle insule dal tessuto esocrino circostante⁷².

La vera e propria svolta nella tecnica d'isolamento delle insule pancreatiche, però, di ebbe con l'introduzione della camera di dissociazione semi-automatizzata e del relativo processo sviluppato da Camillo Ricordi et al. nel 1988 (*Figura 8*)⁷⁴: secondo tale processo, i frammenti di pancreas trattati con collagenasi vengono posti all'interno di una camera in acciaio inossidabile, contenente biglie di vetro, che viene delicatamente agitata per favorire la disgregazione meccanica dell'organo. Questo approccio innovativo, riuscendo a minimizzare il trauma subito dalle cellule durante il processo di digestione e aumentandone così la resa complessiva, è ad oggi diventato lo standard universale per l'isolamento delle insule pancreatiche.

Infine, se fino a poco tempo un'ulteriore limitazione per una digestione pancreatica di successo era rappresentata dalla fonte, dalla qualità e dalla variabilità della collagenasi, una nuova classe di miscele enzimatiche altamente purificate, chiamata *Liberase* (contenente collagenasi I e II, termolisina, clostripaina e proteasi neutra clostridiale), con bassa attività endotossica, ha permesso di ottenere risultati significativi in termini di resa, vitalità e funzione delle insule⁷².

Reprinted from DIABETES, VOL. 37, NO. 4, APRIL 1988
Copyright 1988 by THE JOURNAL OF THE AMERICAN DIABETES ASSOCIATION.

Automated Method for Isolation of Human Pancreatic Islets

CAMILLO RICORDI, PAUL E. LACY, EDWARD H. FINKE, BARBARA J. OLACK, AND DAVID W. SCHARP

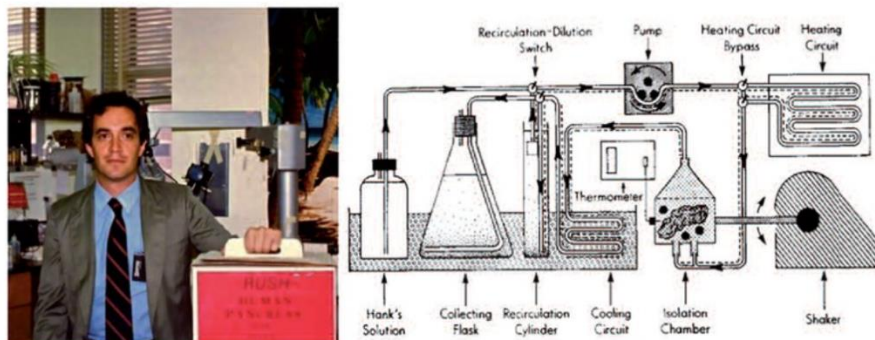


Figura 8 – Fotografia del Dr. Ricordi e illustrazione della camera di dissociazione semi-automatizzata e del relativo processo di isolamento.

Protocollo di Edmonton

Nonostante le innovative tecniche di isolamento delle insule pancreatiche messe a punto negli anni '90, dei 267 allotrapianti eseguiti dal 1990 al 2000, meno del 10% dei riceventi risultava indipendente dalla terapia insulinica ad un anno dal trapianto e la sopravvivenza del *graft* a lungo termine non era per nulla la regola; nella maggior parte dei casi, il regime immunosoppressivo applicato in quegli anni prevedeva un'induzione con globulina antilinfocitaria combinata con ciclosporina, azatioprina e glucocorticoidi.

In ogni tipo di trapianto, la terapia immunosoppressiva a lungo termine è essenziale per prevenire il rigetto del *graft* ma, allo stesso tempo, è correlata ad una serie di complicanze ed effetti collaterali che devono essere prevenuti monitorando attentamente i livelli plasmatici dei farmaci immunosoppressori e aggiustando le loro dosi quando necessario, ricercando continuamente un equilibrio tra efficacia e tossicità⁷²; inoltre, molti farmaci immunosoppressori (in primis i corticosteroidi) sono in grado di danneggiare le β -cellule o indurre resistenza periferica all'insulina, con un vero e proprio effetto diabetogeno che rende ulteriormente difficile il loro impiego nei pazienti con T1D sottoposti a trapianto di insule pancreatiche⁷⁵.

Una seconda importante svolta nella storia del trapianto di insule pancreatiche è stata rappresentata dal Protocollo di Edmonton, sviluppato nel 2000 da Shapiro et al. con l'obiettivo di introdurre un nuovo regime immunosoppressivo privo di corticosteroidi: tale protocollo prevedeva una combinazione di sirolimus, tacrolimus a basso dosaggio e daclizumab, un anticorpo monoclonale contro il recettore dell'interleuchina 2 (IL-2) e si è dimostrato in grado di proteggere il *graft* insulare dal rigetto, minimizzando la tossicità nei confronti delle β -cellule e l'effetto diabetogeno⁷⁵

L'esperienza del gruppo di Edmonton ha, quindi, posto le prime basi per una vera e propria cura del diabete basata sulla terapia cellulare, trasformando il trapianto di insule da una procedura rara, sperimentale e solo occasionalmente di successo, ad una procedura clinica routinaria e di prevedibile efficacia per i pazienti con T1D^{73,76}.

3.2.2. Indicazioni per ITA, SIK e IAK

Il trapianto di insule pancreatiche consente la sostituzione delle cellule β senza la necessità di un intervento chirurgico maggiore, evitando così una complessa chirurgia intra-addominale e le relative complicazioni chirurgiche associate al trapianto di pancreas intero, rappresentando quindi l'unica opzione terapeutica per migliorare il controllo glicemico in tutti quei pazienti, soprattutto anziani e con gravi malattie arteriose periferiche o coronariche, che non possono sottoporsi a un trapianto di pancreas^{62,67}.

Attualmente, le indicazioni generalmente accettate per il trapianto di sole insule pancreatiche (*Islet Transplant Alone*, ITA) includono pazienti, altamente selezionati, con T1D complicato da frequenti episodi di ipoglicemia severa e *hypoglycemia unawareness* e con grave instabilità glicemica (*brittle diabetes*) nonostante l'ottimizzazione della terapia medica⁶⁷.

Analogamente al trapianto di pancreas solido, nei pazienti con T1D e malattia renale terminale, il trapianto di insule può essere eseguito simultaneamente (*Simultaneous Islet-Kidney Transplant*, SIK) o successivamente (*Islet-After-Kidney Transplant*, IAK) al trapianto di rene.

Il trapianto SIK è eseguito piuttosto raramente e può essere proposto a pazienti con T1D in attesa di trapianto di rene da donatore deceduto che non sono candidabili al trapianto di pancreas, soprattutto a causa del rischio chirurgico ad esso associato.

Il trapianto IAK è una valida alternativa per pazienti con T1D e precedente trapianto di rene ancora funzionante, inclusi coloro che hanno sperimentato un precoce fallimento dell'allotrapianto di pancreas completo (SPK o PAK) eseguito in passato. Nel caso del trapianto IAK, la sopravvivenza del *graft* arriva fino al 78% a 10 anni e, anche se l'indipendenza dall'insulina ottenuta può essere inferiore rispetto al trapianto di pancreas (28% a 10 anni, contro il 45% nel PAK), la procedura IAK è associata ad un significativo miglioramento dell'HbA1c (HbA1c \leq 6,0% a 1 anno e si mantiene \leq 6,7% a 10 anni) e ripristina la consapevolezza dell'ipoglicemia, con un significativo miglioramento della qualità della vita⁶².

Inoltre, uno studio di fase 3 su soggetti con T1D e precedente trapianto di rene ha dimostrato che il trapianto IAK è sicuro e non compromette la funzionalità del *graft* renale⁷⁷.

3.2.3. Selezione dei donatori

Nel trapianto di insule, l'attenta scelta dei donatori è il primo step fondamentale per ridurre al minimo il rischio di fallimento o scarsa rendita nel processo di isolamento⁶⁷.

Secondo quanto riportato da Eurotransplant, i soggetti con età superiore a 50 anni e/o con un BMI ≥ 30 kg/m² sono considerati i donatori ideali per l'ITA⁶⁵, poiché pancreas ricchi di tessuto adiposo consentono di ottenere la maggior quantità di insule dopo l'isolamento: la selezione dei donatori per il trapianto di insule, quindi, risulta quasi complementare a quella per il trapianto di pancreas intero e permette di utilizzare una tipologia di organi che altrimenti verrebbero scartati perché associati ad alto rischio di insuccesso nel PTA, aumentando così di gran lunga la disponibilità di donatori di pancreas nella popolazione⁷⁸.

Analogamente al PTA, anche per l'ITA i donatori selezionati sono preferenzialmente deceduti dopo morte cerebrale (DBD); tuttavia, recentemente, sono state proposte linee guida anche per il prelievo di pancreas da donatori DCD (*Donation after Cardiac Death*, DCD) (ponendo un limite di tempo di ischemia calda pari a 30-60min)⁷⁸, poiché è stato dimostrato che, nonostante il rendimento delle insule dopo l'isolamento sia significativamente inferiore per i pancreas DCD rispetto ai DBD, i risultati nei riceventi sono simili (in termini di *graft function* e di punteggio di IglS, discussi successivamente)⁷⁹.

3.2.4. Processo di isolamento delle insule pancreatiche

Tutte le fasi del processo di isolamento e trapianto delle insule pancreatiche per il trattamento del T1D devono soddisfare i criteri, posti dalla FDA, che ne regolamentano la sicurezza e l'efficacia sia come prodotto biologico sia come prodotto farmaceutico⁸⁰.

Set up di una *Facility*

Poiché i prodotti cellulari isolati sono vulnerabili alla contaminazione e non possono essere successivamente sterilizzati, l'isolamento delle isole pancreatiche deve essere eseguito in strutture (*Facilities*) specializzate che rispettino le normative attuali sulle buone pratiche di fabbricazione (*Good Manufacturing Practice*, GMP) e sulle buone pratiche per i tessuti (*Good Tissue Practice*, GTP), capaci di garantire i più standard di qualità, purezza, potenza e sicurezza nel processo di produzione di prodotti cellulari e tissutali destinati a uso umano.

Una *Facility* adibita all'isolamento di β -cellule per l'ITA deve presentare i seguenti requisiti:

- Pressione differenziale positiva rispetto alle stanze adiacenti (aventi un livello di pulizia dell'aria inferiore);
- Cappe di sicurezza biologica, adibite al processo asettico, in cui il livello di pulizia dell'aria deve rispettare gli standard validi per le particelle di Classe 100 [*International Standards Organization (ISO) 5*];
- Filtro HEPA per la fornitura dell'aria;
- Controlli di temperatura e umidità e un sistema di monitoraggio delle condizioni ambientali;
- Pavimenti, soffitti e pareti realizzati con superfici lisce, non porose e facilmente pulibili;
- Accesso alla facility strettamente regolamentato e limitato esclusivamente agli operatori autorizzati;
- L'uso di tutte le attrezzature presenti nella facility deve essere limitato alla lavorazione di tessuti umani.

Inoltre, è fondamentale eseguire test di sterilità e contaminazione sui campioni di cellule insulari, per garantire che non vengano accidentalmente introdotti microorganismi potenzialmente dannosi per il ricevente⁸⁰.

Tecnica di isolamento

Il pancreas è un organo composto da tessuto endocrino ed esocrino, connessi tra loro dalla matrice extracellulare (ECM), costituita da proteine fibrillari (collagene di tipo I, III e V) e proteine non fibrillari; in particolare, una specifica area dell'ECM, la membrana basale, si trova più vicina alla superficie delle insule pancreatiche ed è principalmente composta da collagene di tipo IV e laminina, soprattutto nei pazienti più giovani. Le proteine che compongono l'ECM, in particolare il collagene, sono i bersagli degli enzimi di dissociazione tissutale che vengono utilizzati durante il processo di isolamento delle insule pancreatiche e l'estrema variabilità nella composizione dell'ECM tra pancreas di donatori diversi è uno dei fattori che spiega la differente resa nel processo di isolamento⁸¹.

Il processo di isolamento delle insule pancreatiche, quindi, prevede l'estrazione delle cellule produttrici di insulina dal parenchima pancreatico, preservandone l'integrità strutturale e funzionale. I metodi di isolamento sono diventati sempre più sofisticati negli ultimi tre decenni e, come già accennato, i progressi in questo campo sono in gran parte attribuibili all'introduzione del metodo semi-automatizzato di digestione pancreatica controllata da parte di Ricordi nel 1989; infatti, sebbene questo protocollo di isolamento negli ultimi anni sia stato leggermente modificato dai diversi centri specializzati, i passaggi fondamentali della procedura rimangono gli stessi e sono universali: pulizia del pancreas, perfusione enzimatica, digestione, purificazione, coltura e, infine, controllo qualità⁸².

La qualità del pancreas che viene prelevato è il primo fattore determinante per riuscire successivamente ad isolare e purificare un gran numero di beta-cellule vitali, poiché condizioni quali l'edema pancreatico o la degranulazione del tessuto esocrino, causati da un danneggiamento dell'organo durante il prelievo, possono impedire di separare con successo le insule dal tessuto acinare circostante durante la fase di purificazione. Inoltre, anche i tempi di ischemia influenzano la qualità dell'organo: un'ischemia calda prolungata è correlata ad un tasso di successo inferiore dell'ITA (e lo stesso vale per il PTA), così come il tempo di ischemia fredda deve essere ridotto al minimo e il danno ad esso correlato deve essere

contenuto mediante perfusione vascolare in situ, utilizzando soluzioni di conservazione degli organi, come quella dell'Università del Wisconsin (UW)⁸⁰.

3.2.5. Processo di infusione delle insule pancreatiche nel ricevente

Le insule pancreatiche isolate dal pancreas del donatore vengono infuse nel ricevente tramite un'iniezione percutanea intra-portale ecoguidata, procedura ripetibile e minimamente invasiva, associata ad un minor tasso di complicanze rispetto ai tradizionali trapianti d'organo solido; dopo l'infusione, le insule si innestano a livello dei sinusoidi epatici e qui rilasciano insulina, favorendo il ripristino del corretto controllo glicemico nel ricevente.

Negli anni, in realtà, sono stati valutati numerosi altri siti per il trapianto di insule, come il midollo osseo, la capsula renale, la sottomucosa gastrica, il tratto genitourinario, l'omento, il testicolo, il timo e la camera anteriore dell'occhio, ma senza risultati promettenti; il fegato, al contrario, grazie alla sua capacità rigenerativa, alla doppia vascolarizzazione e alla protezione immunologica, rappresenta un ambiente ottimale per l'innesto delle insule pancreatiche; inoltre, l'utilizzo del sistema venoso portale consente di praticare un accesso minimamente invasivo e di evitare il fenomeno dell'iperinsulinemia sistemica⁸³.

Controindicazioni all'esecuzione di questa procedura sono la sepsi, la dilatazione biliare, un'infezione concomitante e le coagulopatie; inoltre, è necessario verificare che l'INR sia <1,5 e che la conta piastrinica sia normale, sospendendo eventuali farmaci antiaggreganti un intervallo di tempo adeguato prima dell'esecuzione della procedura, così da consentire il ripristino della normale funzionalità piastrinica (per esempio, nel caso dell'aspirina è richiesta la sospensione 7 giorni prima dell'intervento)⁷².

Talvolta, in alcuni pazienti, dopo la prima infusione possono essere necessarie infusioni supplementari per arrivare a fornire una massa di insule adeguata a ristabilire un controllo glicemico pressoché fisiologico⁷².

3.2.6. Complicanze

Nel complesso, il trapianto di insule pancreatiche è considerata una procedura sicura. Le due complicanze più comuni sono^{72,83}:

- Sanguinamento (in circa l'11% dei casi): tale rischio può essere ridotto operando un'adeguata embolizzazione del parenchima epatico durante la rimozione del catetere;
- Trombosi della vena porta (3% dei casi): la trombosi completa è molto rara e quella parziale di solito non determina conseguenze cliniche; tale complicanza, che può dipendere anche dal volume, la purezza e la trombogenicità del preparato di insule che viene infuso, può essere efficacemente prevenuta con un'adeguata terapia anticoagulante e un attento monitoraggio della pressione venosa portale.

Le complicanze minori includono: puntura della via biliare o della colecisti, reazioni vaso-vagali, nausea o vomito, singhiozzo dovuto all'irritazione diaframmatica e reazioni agli oppiacei e alle benzodiazepine⁷².

Cambiamenti tardivi nella struttura epatica possono essere osservati da 6 a 12 mesi dopo il trapianto, anche se la relazione tra l'attecchimento delle insule pancreatiche e la steatosi epatica rimane dibattuta: si pensa che il meccanismo fisiopatologico sottostante sia una conseguenza della produzione locale di insulina con stimolazione della lipogenesi e inibizione della lipolisi, risultando nello sviluppo di tessuto adiposo⁸³.

3.2.7. Outcome

La terapia sostitutiva con cellule β si è sviluppata senza una chiara definizione dei risultati clinici e funzionali del trapianto, rendendo inizialmente difficile la comprensione della sua reale efficacia terapeutica, così come il confronto tra il trapianto di insule (ITx) e quello di pancreas (PTx) o quello con altre soluzioni terapeutiche per il diabete, fra cui l'innovativo pancreas artificiale.

A tal fine, nel gennaio 2017, l'*International Pancreas and Islet Transplant Association* (IPITA) e la *European Pancreas and Islet Transplant Association* (EPITA), in occasione di un *workshop* tenutosi ad Igls (Austria), hanno definito in

modo standardizzato gli *outcome* funzionali e clinici della terapia di sostituzione delle cellule β , ora conosciuti come criteri di Igls. I criteri di Igls definiscono la funzione del *graft* β -cellulare (*graft function*) come ottimale, buona, marginale o fallimentare, basandosi su quattro parametri (*Tabella IV*): emoglobina glicata, eventi di ipoglicemia severa (*Severe Hypoglycaemic Events*, SHEs), fabbisogno insulinico e livelli di C-peptide. Secondo tali criteri, solo trapianti che esitano in una *graft function* ottimale o buona sono considerati un successo clinico⁸⁴.

Tabella IV – Criteri di Igls

β -cell graft functional status	HbA _{1c} , % (mmol/mol) ^a	Severe hypoglycemia, events per y	Insulin requirements, U·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	C-peptide	Treatment success
Optimal	≤6.5(48)	None	None	>Baseline ^b	Yes
Good	<7.0(53)	None	<50% baseline ^c	>Baseline ^b	Yes
Marginal	Baseline	<Baseline ^d	≥50% baseline	>Baseline ^b	No ^e
Failure	Baseline	Baseline ^f	Baseline	Baseline ^g	No

Baseline, pretransplant assessment (not applicable to total pancreatectomy with islet autotransplantation patients).

^aMean glucose should be used to provide an estimate of the glycated hemoglobin, termed the glucose management indicator, in the setting of disordered red blood cell life span.

^bShould also be > 0.5 ng/mL (>0.17 nmol/L) fasting or stimulated.

^cShould also be < 0.5 U·kg⁻¹·d⁻¹; might include the use of noninsulin antihyperglycemic agents.

^dShould severe hypoglycemia occur following treatment, then continued benefit may require assessment of hypoglycemia awareness, exposure to serious hypoglycemia (<54 mg/dL [3.0 mmol/L]), and/or glycemic variability/lability with demonstration of improvement from baseline.

^eClinically, benefits of maintaining and monitoring β -cell graft function may outweigh risks of maintaining immunosuppression.

^fIf severe hypoglycemia was not present before β -cell replacement therapy, then a return to baseline measures of glycemic control used as the indication for treatment (6, 7) may be consistent with β -cell graft failure.

^gMay not be reliable in uremic patients and/or in those patients with evidence of C-peptide production before β -cell replacement therapy.

Dopo due anni di applicazione nella pratica clinica, durante il 17° Congresso Mondiale IPITA, i criteri di Igls sono stati esaminati, mettendone in luce alcuni limiti, alla luce dei quali sono stati proposti i criteri di Igls 2.0, in cui la definizione dell'*outcome* clinico del trattamento è separata e indipendente da quella della funzionalità del *graft* β -cellulare (*Tabella V*). I parametri che definiscono l'*outcome* clinico sono il controllo glicemico e l'ipoglicemia, valutati attraverso i valori di TIR e TBR, nei pazienti con CGM, oppure attraverso l'HbA1c e l'occorrenza di SHE, in coloro che non ne fanno uso; i livelli di C-peptide e il fabbisogno insulinico, invece, diventano dei parametri supplementari, da considerare solo qualora si voglia valutare la *graft function*.

Confrontando gli *outcome* tra PTx e ITx utilizzando i criteri di Igls 2.0, una funzionalità del *graft* β -cellulare buona e marginale è osservata più frequentemente con il trapianto di isole pancreatiche, mentre risultati ottimali e il fallimento sono

più tipicamente associati al PTA. Inoltre, il PTA mostra una funzionalità più duratura rispetto al trapianto di isole a 4 anni post-trapianto ed il più alto tasso di successo nel trattamento è tipicamente osservato con SPK⁸⁵.

Tabella V – Criteri di Igls 2.0

Treatment outcome	Glycemic control		Hypoglycemia		Treatment success
	HbA _{1c} , % (mmol/mol) ^a	CGM, % time-in-range	Severe hypoglycemia, events per y	CGM, % time < 54 mg/dl (3.0 mmol/L)	
Optimal	≤6.5 (48)	≥80	None	0	Yes
Good	<7.0 (53)	≥70	None	<1	Yes
Marginal	≤Baseline	>Baseline	<Baseline ^b	<Baseline	No ^c
Failure	~Baseline	~Baseline	~Baseline ^d	~Baseline	No
β-cell graft function ^e	C-peptide, ng/mL (nmol/L) ^f		Insulin use or noninsulin antihyperglycemic therapy		
Optimal	Any		None		
Good	>0.5 (0.17) stimulated ≥0.2 (0.07) fasting		Any		
Marginal	0.3-0.5 (0.10-0.17) stimulated 0.1-<0.2 (0.04-<0.07) fasting		Any		
Failure	<0.3 (0.10) stimulated <0.1 (0.04) fasting		Any		

Baseline, pretransplant assessment (not applicable to total pancreatectomy with islet autotransplantation patients).

Abbreviations: CGM, continuous glucose monitoring; HbA_{1c}, glycated hemoglobin.

^aMean glucose should be used to provide an estimate of the HbA_{1c}, termed the glucose management indicator, in the setting of disordered red blood cell life span.

^bShould severe hypoglycemia occur following treatment, then continued benefit may require assessment of hypoglycemia awareness, exposure to serious hypoglycemia (<54 mg/dL [3.0 mmol/L]), and/or glycemic variability/lability with demonstration of improvement from baseline.

^cClinically, benefits of maintaining and monitoring β-cell graft function may outweigh risks of maintaining immunosuppression.

^dIf severe hypoglycemia was not present before β-cell replacement therapy, then a return to baseline measures of glycemic control used as the indication for treatment (6, 7) may be consistent with β-cell graft failure.

^eCategorization of β-cell graft function must first meet treatment outcome based on measures of glucose regulation.

^fMay not be reliable in uremic patients and/or in those patients with evidence of C-peptide production before β-cell replacement therapy.

Infine, dato l'impatto psicologico del T1D nella qualità della vita dei pazienti che ne sono affetti, la valutazione dell'esito clinico della terapia sostitutiva con β-cellule dovrebbe anche prendere in considerazione i feedback riportati dai pazienti stessi (*patient-reported outcomes*, PROs), tra cui lo stress correlato al diabete (*diabetic distress*), la paura dell'ipoglicemia ed eventuale stato d'ansia o depressione⁸⁵: un recente studio trasversale, infatti, ha dimostrato che, nonostante l'evidente beneficio clinico, una *graft function* definita "marginale" dai criteri di Igls è, in realtà, associata ad un benessere psicofisico subottimale del paziente, includendo elevata paura dell'ipoglicemia e ansia severa, a tal punto che tali pazienti potrebbero beneficiare di ulteriori trattamenti, compreso un nuovo trapianto⁸⁶.

Complessivamente, i risultati dell'allotrapianto di insule sia a breve che a lungo termine sono in progressivo miglioramento. Nei dati raccolti in un rapporto del CITR (*Collaborative Islet Transplant Registry*) del 2014 su 864 riceventi di allotrapianto, l'indipendenza dall'insulina è stata raggiunta con una o più infusioni

in più dell'80% dei pazienti, di cui circa il 50% dei essi è poi rimasto indipendente dall'insulina anche a 5 anni dal trapianto⁷⁶.

Inoltre, il *trial* TRIMECO è stato il primo studio randomizzato controllato a confrontare i risultati metabolici nei pazienti con T1D sottoposti trapianto di insule (ITA o IAK) rispetto quelli in trattamento insulinico intensivo, dimostrando che, a 6 mesi di *follow-up*, i primi presentavano risultati superiori, in termini di significativa riduzione degli eventi ipoglicemici severi e dei valori di HbA1⁸⁷.

SCOPO DELLO STUDIO

Da novembre 2023, presso l'UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas dell'Azienda Ospedale-Università di Padova (AOUP), è stato avviato un nuovo programma italiano di trapianto di insule pancreatiche – il primo nella Regione Veneto ed il terzo in Italia – con l'obiettivo di rendere l'allotrapianto di insule pancreatiche un'opzione terapeutica accessibile ad un numero sempre più ampio di pazienti con diabete mellito di tipo 1 e difficoltà nel mantenere un adeguato controllo glicemico, nonostante una terapia medica ottimale e l'impiego di innovative tecnologie per il monitoraggio glicemico continuo.

Il presente studio si propone di presentare i risultati di questo nuovo programma, analizzando i primi trapianti eseguiti consecutivamente fino ad oggi.

Particolare attenzione sarà posta alla tecnica di processazione ed infusione delle β -cellule pancreatiche, al protocollo farmacologico adottato e agli *outcome* clinici dei trapianti eseguiti, in termini di miglioramento del controllo glicemico, riduzione del fabbisogno insulinico e della frequenza e gravità degli episodi ipoglicemici.

MATERIALI E METODI

1. Disegno dello studio

È stato condotto uno studio osservazionale descrittivo su singolo centro che illustra i primi quattro casi consecutivi di trapianto di insule pancreatiche, eseguiti su tre pazienti a partire da novembre 2023, quando è stato avviato il programma di trapianto di insule presso l'UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas dell'AOUP.

2. Selezione dei riceventi

2.1. Criteri di inclusione

I pazienti selezionati per il trapianto di insule devono essere affetti da diabete mellito di tipo 1 da più di 5 anni, complicato dalla presenza di almeno una delle seguenti condizioni, che persiste nonostante il trattamento insulinico intensivo:

- a) Episodi di ipoglicemia severa negli ultimi 3 anni, definiti come un evento con sintomi compatibili con l'ipoglicemia in cui il soggetto ha richiesto l'assistenza di un'altra persona e che è stato associato a un livello di glucosio nel sangue < 50 mg/dL (2,8 mmol/L) oppure ad un rapido recupero dopo la somministrazione di carboidrati per via orale, di glucosio per via endovenosa o di glucagone;
- b) Ridotta consapevolezza dell'ipoglicemia (*hypoglycemia unawareness*), definita come assenza di adeguati sintomi autonomici in presenza di livelli di glucosio plasmatico < 54 mg/dL;
- c) Episodi di chetoacidosi diabetica negli ultimi due anni che hanno richiesto l'ospedalizzazione;
- d) Difficoltà nel mantenere i valori di glucosio nell'intervallo tra 70-180 mg/dL, registrati da un sensore di glucosio (CGM).

2.2 Criteri di esclusione

I pazienti non possono essere candidati al trapianto di insule se presentano almeno una delle seguenti caratteristiche:

- 1) Diagnosi di compresente malattia cardiaca, definita da una qualsiasi delle seguenti condizioni:
 - a. Infarto miocardico recente (negli ultimi sei mesi);
 - b. Evidenza angiografica di malattia coronarica non correggibile;
 - c. Evidenza di ischemia all'esame cardiaco funzionale (con test da sforzo ecocardiografico, raccomandato in soggetti con storia di malattia ischemica);
 - d. Insufficienza cardiaca con NYHA>II (*New York Heart Association*).
- 2) Abuso attivo di alcol o sostanze;
- 3) Disturbo psichiatrico di entità tale da rendere il soggetto non candidabile al trapianto;
- 4) Storia di non aderenza ai regimi terapeutici prescritti;
- 5) Infezione attiva (epatite C, epatite B, HIV);
- 6) Qualsiasi storia di tumori maligni, eccetto cancro della cute a cellule squamose o basali (che deve essere asportato prima del trapianto);
- 7) Storia di ictus negli ultimi 6 mesi;
- 8) BMI > 27 Kg/m²;
- 9) Risposta del C-peptide dopo stimolazione con glucagone (1mg I.V.) o qualsiasi C-peptide $\geq 0,3$ ng/mL);
- 10) Incapacità di esprimere il consenso informato;
- 11) Età inferiore a 18 anni;
- 12) Diagnosi di insufficienza renale cronica;
- 13) Cirrosi epatica documentata;
- 14) Retinopatia proliferativa non trattata;
- 15) Test di gravidanza positivo o intenzione di una futura gravidanza o paziente attualmente in fase di allattamento;
- 16) Fabbisogno insulinico >1 IU/kg/die;
- 17) Allergia al materiale di contrasto radiografico.

2.3. Valutazione dell'idoneità e inserimento in lista d'attesa

La valutazione della candidabilità dei pazienti con T1D al trapianto di insule viene svolta presso gli Ambulatori Integrati dell'UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas e dell'UOC Malattie del Metabolismo dell'AOUP da un'equipe multidisciplinare, composta da un chirurgo con *expertise* trapiantologica e un diabetologo, e comprende:

- Valutazione diabetologica, per confermare la diagnosi di T1D e la durata della malattia, analisi dello stile di vita e del regime insulinico adottato, del controllo glicemico raggiunto (visualizzando anche l'AGP report nei pazienti portatori di CGM) e dell'entità delle complicanze acute e croniche del diabete;
- Valutazione chirurgica, per documentare eventuali comorbidità che controindichino il trapianto e per illustrare al paziente la procedura di trapianto di insule e la terapia immunosoppressiva ad esso correlata.

Se al termine della valutazione multidisciplinare, bilanciando rischi e benefici (*Figura 9*), il paziente viene ritenuto candidabile al trapianto di insule pancreatiche, si procede alla prescrizione di esami di laboratorio e strumentali (come previsto dalla *checklist* del *Nord Italian Transplant* (NITp) per il trapianto di insule) finalizzati ad escludere eventuali condizioni che controindichino il trapianto e a confermarne l'idoneità. Vengono, inoltre, eseguiti presso il Laboratorio Analisi di riferimento di AOUP prelievi ematici per la determinazione del gruppo sanguigno e per la tipizzazione HLA.

Dunque, qualora venga confermata l'idoneità del paziente al trapianto, si procede al suo inserimento in lista d'attesa per allotrapianto di insule pancreatiche presso il Centro Trapianti di Padova che appartiene all'area NITp e, quindi, all'invio trimestrale dei campioni di siero trimestralmente al Laboratorio di Immunologia dei trapianti del NITp per la periodica valutazione immunologica e, quindi, per il mantenimento del paziente in lista attiva.

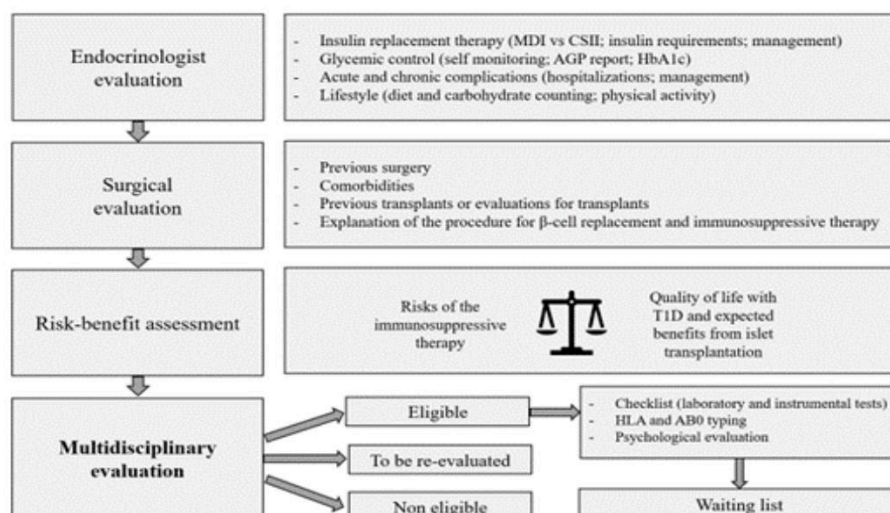


Figura 9 – Steps della valutazione multidisciplinare per valutare la candidabilità al trapianto di insule pancreatiche

3. Selezione dei donatori

L' idoneità di un paziente deceduto alla donazione di pancreas per trapianto di insule deve includere: l' anamnesi fisiologica (con particolare riguardo alle abitudini di vita), l' anamnesi patologica prossima e remota, l' esame fisico ed i risultati degli esami sierologici, biumorali e strumentali eseguiti sul potenziale donatore; deve, inoltre, essere valutata la compatibilità ABO e HLA con il ricevente.

L' idoneità viene valutata dal personale medico della UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas, verificando tutte le condizioni che costituiscono cause generali di esclusione dalla donazione secondo le *Linee Guida per il prelievo, la processazione e l' utilizzo di cellule (isole pancreatiche, epatociti umani)* del 7/09/2007⁸⁸; in particolare, i criteri d' esclusione del donatore più rilevanti sono: età >75 anni, tempi di ischemia calda e fredda prolungati, storia di T1D, BMI <19 Kg/m².

4. Isolamento delle insule pancreatiche

Il pancreas viene prelevato dal donatore contestualmente a duodeno e milza, prestando attenzione a preservare l' integrità della capsula pancreatica e a garantire un adeguata conservazione in ghiaccio (*cold storage*); viene, poi, trasportato presso la *Facility* del Centro per la Terapia Cellulare del Diabete (TCD) di Padova, dove avviene il processo di isolamento delle insule pancreatiche.

Nel dettaglio, l'isolamento delle insule si articola in 6 fasi sequenziali (*Figura 10*):

- 1) **Dissezione e decontaminazione:** il pancreas viene posizionato sotto cappa e si rimuovono il duodeno, la milza e il tessuto adiposo peripancreatico; l'organo viene poi decontaminato tramite immersioni successive (di 1min ciascuna) in soluzioni antisettiche e di lavaggio.
- 2) **Perfusione:** dopo aver pesato l'organo, si incannulano i dotti pancreatici e si perfonde il pancreas con una soluzione di collagenasi e proteasi, che facilita la successiva separazione della porzione endocrina da quella esocrina.
- 3) **Digestione:** il pancreas viene quindi tagliato in 10-14 pezzi e trasferito all'interno della Camera di Ricordi per procedere con la digestione meccanica; si eseguono campionamenti seriali per valutare la percentuale di insule libere rispetto al tessuto acinare (mediante colorazione con Ditizone, DTZ) e quando essa raggiunge il 40-50% si aggiungono al tessuto grandi volumi di soluzione tampone fredda per interrompere il processo di digestione.
L'inizio della digestione in Camera di Ricordi coincide con il termine del tempo di ischemia fredda, iniziato al momento del *cross-clamp* del donatore durante il prelievo degli organi.
- 4) **Purificazione:** a partire dal campione di pancreas digerito, le insule vengono separate dal tessuto esocrino e duttale sulla base del gradiente di densità, utilizzando una centrifuga COBE 2991, e vengono poi suddivise in provette da 250ml in base al grado di purezza:
 - Frazioni ad alta purezza o *Top* (> 70% di insule);
 - Frazioni a media purezza o *Middle* (40-69% di insule);
 - Frazioni a bassa purezza o *Bottom* (10-39% di insule).
- 5) **Coltura:** le insule vengono poste in coltura a 37 °C per almeno 12 ore, fino ad un massimo di 48 ore.
- 6) **Controllo di qualità (QC):** durante l'intero processo di isolamento vengono eseguiti prelievi di campioni da destinare al controllo di qualità, con lo scopo di valutare efficacia e sicurezza delle insule isolate

per il successivo trapianto nel ricevente. Durante il QC si misurano i seguenti parametri:

- Purezza e numerosità (espressa in numero di equivalenti di insule, IEQ), mediante colorazione con DTZ;
- Vitalità, mediante sonda fluorescente;
- Funzionalità, tramite test di sensibilità al glucosio (*Glucose Stimulated Index, GSI*);
- Sterilità, ponendo particolare attenzione all'eventuale presenza di endotossine; gli stessi controlli microbiologici vengono eseguiti più volte durante il processo anche sul personale e sull'ambiente.

I valori soglia per l'idoneità delle insule isolate applicati presso il Centro TCD dell'AOUP sono illustrati nella *Tabella VI*.

Il prodotto finale ottenuto viene diluito in una soluzione specifica per il trapianto e suddiviso in siringhe da 50mL, ciascuna contenente non più di 1mL di pellet e caratterizzata da un definito grado di purezza (siringhe *Top, Middle e Bottom*).

La durata totale del processo di isolamento viene calcolata dall'arrivo dell'organo in *Facility* al momento dell'invio del prodotto finale presso la Sala di Radiologia Interventistica dell'AOUP per l'infusione.

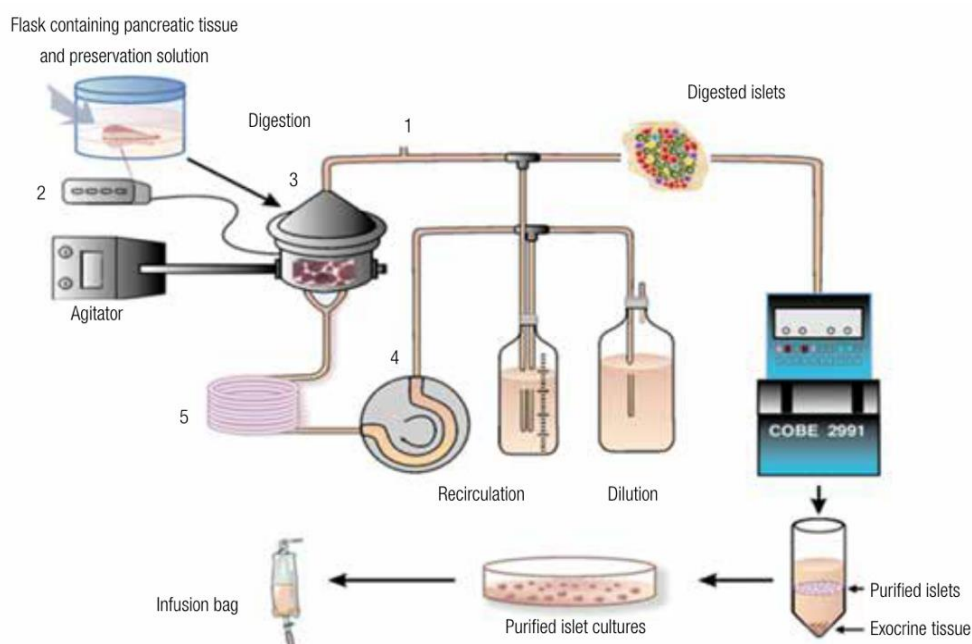


Figura 10 – Illustrazione schematica del processo di isolamento delle insule pancreatiche

Tabella VI – Valori soglia di purezza, IEQ e vitalità per idoneità delle insule isolate

Test	Significato	Cut-off
Purezza	% di b-cellule presente nel materiale isolato rispetto agli altri tipi di tessuto	$\geq 50\%$
Numero di equivalenti di insule (IEQ)	Stima del diametro delle cellule; 1 IEQ equivale ad una cellula con un diametro $\approx 150 \mu\text{m}$	$>5000 \text{ IEQ/kg}$ (in un volume max di 10mL)
Vitalità	N° di cellule vive in rapporto al n° totale di cellule isolate	$\geq 70\%$

5. Infusione delle insule nel ricevente

Verificata la compatibilità immunologica tra donatore e ricevente (tramite l'esito negativo del *cross-match* in citotossicità che il Laboratorio di Immunologia dei trapianti è tenuto a comunicare all'equipe trapiantologica di AOUP prima del trapianto) e confrontato il numero di equivalenti di insule ottenuto post-purificazione con il peso corporeo del ricevente (che deve essere almeno superiore a 5000 IEQ/Kg), l'equipe chirurgica procede con la convocazione del ricevente in ospedale.

Il ricevente selezionato viene ricoverato presso la UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas di AOUP e vengono eseguiti: anamnesi ed esame obiettivo (ponendo particolare attenzione all'anamnesi farmacologica in merito al fabbisogno insulinico), esami ematochimici e sierologici pre-trapianto (emocromo, funzionalità epatica e renale, ionemia, coagulazione, sierologia per HBV, HCV, HIV, CMV ed EBV), misurazione della glicemia su sensore e su stick capillare, radiografia del torace, elettrocardiogramma (ECG) e valutazione anestesiológica.

In attesa dell'inizio della procedura d'infusione, il candidato viene mantenuto a digiuno e viene impostata terapia con infusione continua di insulina in pompa-siringa (50 UI insulina in 50mL di soluzione fisiologica) secondo algoritmo impostato dal diabetologo. In caso di ricevente non portatore di sensore glicemico, il diabetologo procede anche al posizionamento dello stesso (*FreeStyle LibreLink*[®]).

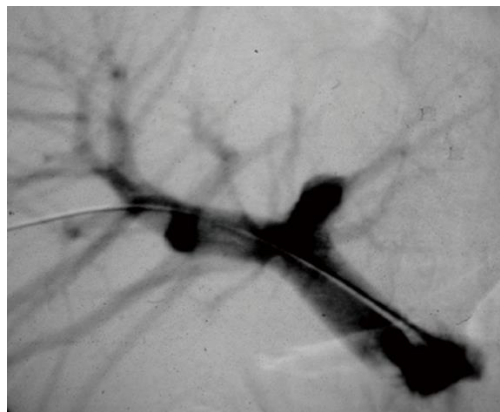
Ottenuti gli esiti degli accertamenti preoperatori che non pongono controindicazione a procedere con il trapianto, l'*equipe* chirurgica prosegue con l'acquisizione del consenso informato del paziente alla procedura di infusione e con l'avvio della terapia immunosoppressiva (vedi *Paragrafo 6.1*).

Si inizia, dunque, la procedura d'infusione, che consiste in un'iniezione percutanea intra-portale ecoguidata, eseguita in sala di Radiologia Interventistica.

Il paziente è posizionato supino e la procedura viene eseguita in regime di anestesia generale con maschera laringea e monitoraggio routinario emodinamico. Dopo l'induzione dell'anestesia, prima di procedere con l'infusione, si posiziona un catetere vescicale e un accesso venoso centrale, generalmente in vena giugulare.

Previo allestimento di campo sterile, il Radiologo con approccio intercostale destro e ago da 20/21 Gauge, esegue l'accesso percutaneo ecoguidato da un ramo periferico della vena porta (di solito ramo portale per S5); guadagna poi il tronco portale principale e posiziona un catetere da 5 French sotto guida fluoroscopica; si esegue, quindi, una portografia preliminare (*Figura 11*)⁸³ per documentare la regolare pervietà dell'albero venoso portale e una misurazione diretta della pressione portale basale del paziente (valori normali sono compresi tra 6 e 12mmHg, mentre valori >20mmHg sono generalmente considerati una controindicazione all'esecuzione della procedura⁸³).

Si somministrano direttamente in vena porta 2500 UI di eparina.



*Figura 11 – Portografia iniziale
ottenuta in seguito al corretto posizionamento del catetere da 5Fr*

Segue la lenta infusione, da parte del Chirurgo, di un numero variabile di siringhe, da 50mL ciascuna, di soluzione contenente insule pancreatiche (50mL in circa 5 minuti), agitando gentilmente ciascuna siringa durante il tempo di infusione per evitare la sedimentazione delle cellule. Al termine dell'iniezione di ogni siringa, il chirurgo esegue un lavaggio con 20mL di fisiologica e successiva infusione portale di 500 UI di eparina; dunque, si monitora la pressione portale e, qualora quest'ultima superi 20mmHg, la procedura viene interrotta; in caso contrario, si prosegue con l'infusione delle siringhe successive. Tale procedura viene meticolosamente replicata per ogni singola siringa da infondere e la sequenza di infusione delle siringhe è in ordine decrescente di purezza (prima siringhe *Top*, poi *Middle*, infine *Bottom*).

Terminata la procedura, si esegue una portografia finale di controllo e si posiziona un dispositivo di emostasi extravascolare in prossimità del sito di accesso vascolare (tipo *Amplazer Vascular Plug*) per minimizzare il rischio emorragico.

Il paziente, infine, viene trasferito in Terapia Semintensiva della UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas per stretto monitoraggio post-operatorio.

6. Terapia farmacologica

6.1. Protocollo immunosoppressivo

La terapia immunosoppressiva prevede una terapia di induzione e una terapia di mantenimento.

La terapia d'induzione viene somministrata per via endovenosa (EV) e segue uno schema variabile a seconda del farmaco scelto tra Basiliximab (anticorpo monoclonale antiCD25) o Immunoglobuline Anti-Timociti Umani (ATG).

La scelta della terapia d'induzione viene eseguita sulla base delle caratteristiche immunologiche del ricevente:

- In caso di pazienti immunizzati (in seguito a pregressi trapianti, trasfusioni e/o gravidanze che abbiano causato la presenza di anticorpi antiHLA circolanti) si preferisce l'utilizzo di ATG, la cui infusione EV inizia pre-trapianto in pompa-siringa e prosegue per 24 ore; generalmente la dose di partenza viene modulata sul peso corporeo del paziente (circa 1,5 mg/Kg) e sulla conta leucocitaria e piastrinica di partenza, data la nota capacità del

farmaco di indurre pancitopenia. L'infusione prosegue anche nei giorni successivi al trapianto per un totale di circa 4 giorni, rinnovando la dose di farmaco ogni 24 ore e riducendola di circa 25 mg/die per ottenere una dose complessiva di ATG infuse tra 5 e 7 mg/Kg, con monitoraggio giornaliero dell'emocromo.

- In caso di riceventi non immunizzati, si predilige la scelta di Basiliximab (Simulect®) che viene somministrato alla dose di 20 mg pre-trapianto e nuovamente, alla dose di 20 mg, in giornata 4.

Quanto alla terapia immunosoppressiva di mantenimento, in linea con il Protocollo di Edmonton⁷⁵, ai riceventi viene somministrato un regime immunosoppressivo privo di corticosteroidi, che prevede Tacrolimus (preferenzialmente *twice daily* – dose di partenza circa 1 mg/kg) e Acido Micofenolico per via orale.

In caso di riceventi già in terapia immunosoppressiva pre-trapianto di insule per altre motivazioni (come, ad esempio, un precedente trapianto d'organo solido funzionante), non è esclusa la possibilità di proseguire la terapia in atto se prevede altra formulazione di Tacrolimus (ad esempio *once daily*) e/o l'assunzione cronica di terapia steroidea. La decisione è a discrezione dell'equipe chirurgica.

La prima somministrazione di Tacrolimus e Acido Micofenolico viene eseguita immediatamente prima del trapianto. La terapia immunosoppressiva di mantenimento proseguirà poi anche nel lungo termine con una dose di Tacrolimus che viene periodicamente regolata sulla base della tacrolemia (con *target trough level* consigliato di 8-10 µg/L almeno nei primi tre mesi post-trapianto) e con Acido Micofenolico assunto in bisomministrazione giornaliera al dosaggio di 720 mg, con eventuale correzione sulla base dell'andamento della conta leucocitaria (dato l'effetto leucopenizzante del farmaco).

6.2. Terapia insulinica

La terapia con insulina in pompa-siringa impostata prima del trapianto secondo prescrizione diabetologica viene mantenuta fino alla seconda o terza giornata post-operatoria.

In seguito alla completa rialimentazione del paziente si interrompe l'infusione continua di insulina e si introduce un regime insulinico *basal-bolus* comprendente

insulina lenta e correzioni con insulina rapida, ad un dosaggio prescritto dal diabetologo in base al fabbisogno insulinico post-trapianto, alla secrezione di C-peptide e all'andamento glicemico del paziente (monitorato tramite glicemia capillare e da sensore).

6.3. Altre terapie concomitanti

Sulla scorta dei risultati ottenuti dall'*University of Illinois Chicago*⁸⁹, il protocollo farmacologico prevede anche la somministrazione di un farmaco anti-TNF α (Etanercept) che viene somministrato per via endovenosa (50mg) 2 ore prima dell'infusione e poi sottocute (25mg) in giornata 3, 7 e 10 post trapianto.

All'arrivo in reparto, una volta terminata l'infusione e monitorato il PTT, a tutti i pazienti viene somministrata profilassi antitrombotica con eparina in pompa-siringa alla dose di 300UI/h per le prime 24h, poi sostituita con Enoxaparina sodica (Inhixa[®], 4000 UI die) per tutta la durata del ricovero.

Per ciò che concerne la profilassi antimicrobica, viene eseguita *short therapy* con antibiotico penicillinico ad ampio spettro e copertura antimicotica con fluconazolo che, invece, viene generalmente mantenuto per os per circa 1 mese. Considerato l'alto rischio d'infezione correlato alla terapia immunosoppressiva prolungata, a tutti i pazienti vengono anche somministrati sulfametoxazolo-tripetoprim (Bactrim Forte[®], 1 compressa 2 volte/settimana per almeno 6 mesi), per la prevenzione della polmonite da *Pneumocystis jiroveci*, e Valganciclovir (Valcyte[®], 450mg/die per 3 mesi) per prevenire l'infezione primaria da *Cytomegalovirus* (CMV) in caso di sierologia negativa o la sua riattivazione in caso di sierologia positiva.

Infine, a partire dal giorno successivo al trapianto ed in concomitanza con la rialimentazione del paziente, si introduce nel regime terapeutico la somministrazione di Liraglutide (Victoza[®]– alla dose di 0.6 mg/die sottocute 60 minuti prima del pasto, da aumentare nelle settimane successive a 1.2 mg/die sottocute).

7. Monitoraggio post-procedura

Il monitoraggio del ricevente durante la degenza comprende:

- Ecografia epatica con color-Doppler in prima giornata post-procedura, per escludere trombosi venosa portale e sanguinamenti intraddominali.
- Misurazione della glicemia, scannerizzando il sensore ogni ora ed eseguendo monitoraggio capillare ogni due ore per valutare la congruenza delle due misurazioni;
- Esami ematochimici (emocromo con formula, funzionalità renale ed epatica, amilasi e lipasi, ionemia, coagulazione) e microbiologici (in particolare CMV-DNA e EBV-DNA plasmatici) quotidiani, prestando particolare attenzione al dosaggio giornaliero dei livelli plasmatici di C-peptide a digiuno e post-prandiale e dei livelli plasmatici di valle (*trough levels*) di Tacrolimus.

La dimissione del paziente, salvo variazioni del quadro clinico, avviene generalmente in quinta o sesta giornata post-procedura.

8. Follow-up

A partire dalla dimissione, il controllo glicemico dei pazienti trapiantati di insule viene monitorato quotidianamente tramite il sensore CGM (*FreeStyle LibreLink®*) di cui sono in dotazione.

Il *follow-up* a lungo termine prevede:

- Per le prime 4 settimane post-trapianto: esami ematochimici e visita ambulatoriale due volte a settimana, alternando l'esecuzione di esami ematochimici comprensivi di sottopopolazioni linfocitarie, bilirubina, ALP, LDH, colesterolo, trigliceridi, esame delle urine, esami microbiologici con determinazione del CMV-DNA plasmatico ad esami ematochimici di base (emocromo, urea, creatinina, AST, ALT, sodio, potassio, calcio, magnesio); a tutti i prelievi, inoltre, si esegue il dosaggio della tacroleemia a valle, del C-peptide basale e delle amilasi;
- Dalla 5^a alla 12^a settimana post-trapianto: esami ematochimici e visita ambulatoriale una volta a settimana, eseguendo esami ematochimici e microbiologici completi.

Trascorsi i primi tre mesi di *follow-up*, si prosegue con controlli ambulatoriali mensili. Qualora durante il *follow-up* si registri un peggioramento del controllo glicemico contestualmente ad un aumento del fabbisogno insulinico ed a livelli di C-peptide basale ridotti e non modificati dallo stimolo prandiale, il paziente può essere rivalutato per un possibile reinserimento in lista d'attesa, con lo scopo di eseguire ulteriori infusioni.

9. Valutazione dell'efficacia del trapianto

In questo studio, per valutare l'efficacia del trapianto di insule a lungo termine nei tre pazienti trapiantati, sono stati valutati i seguenti *endpoints* ad 1 e 3 mesi di distanza da ciascuna infusione: livelli di C-peptide, *BETA-2 score*, fabbisogno insulinico e controllo glicemico.

Il C-peptide viene dosato successivamente al trapianto quotidianamente durante il periodo di ricovero e poi in occasione di ogni visita di controllo; la misurazione viene eseguita sia a digiuno (C-peptide basale o *fasting* C-peptide) sia in seguito al pasto (C-peptide post-prandiale o stimolato). La positività del C-peptide è definito dal minimo livello misurabile e, per il C-peptide a digiuno, corrisponde a livelli >0.1 ng/mL.

Il *BETA-2 score* è un punteggio composto calcolato sulla base del C-peptide a digiuno (nmol/L), della glicemia a digiuno (mmol/L), dell'HbA1c (%) e del fabbisogno insulinico (U/Kg). Si tratta di una variabile continua, in cui un punteggio pari a 0 indica assenza di *graft function*⁹⁰.

Lo *score*, la cui formula è illustrata nella *Figura 12*⁹⁰, è stato calcolato utilizzando il calcolatore presente al link: <https://www.beta2score.com/>

$$\text{BETA-2 score} = \frac{\left(\sqrt{\text{fasting C-peptide (nmol/L)}} \times (1 - \text{insulin dose [units/kg]}) \right)}{\text{Fasting plasma glucose (mmol/L)} \times \text{HbA1c(\%)}} \times 1000$$

Figura 12 – Formula per calcolare il β -2 score

Il fabbisogno insulinico viene valutato e calibrato durante le visite di controllo ambulatoriali ad 1 e 3 mesi, da parte del diabetologo, sommando alla quota di insulina lenta le correzioni di insulina rapida, generalmente precedenti i pasti, che il paziente si auto-somministra giornalmente.

La valutazione del controllo glicemico ha previsto l'analisi dei dati registrati dal sensore CGM, riassunti graficamente nell'AGP Report.

Nella lettura dell'AGP Report, come riportato nelle Linee Guida⁹¹, sono stati utilizzati come riferimento i seguenti valori *target* di tempo (% ore/giorno) da trascorrere all'interno di ciascun intervallo glicemico:

- TIR (70-180 mg/dL) > 70% (16h 48min)
- Tempo < 70 mg/dL: inferiore al 4% (58min)
- Tempo < 54 mg/dL: inferiore all'1% (14min)
- Tempo > 180 mg/dL: inferiore al 25% (6h)
- Tempo > 250 mg/dL: inferiore al 5% (1h 12min)

Inoltre, dalla lettura del sensore, sono stati valutati come parametri di controllo glicemico anche il valore medio di glucosio (*target* ≤ 154 mg/dL), il GMI (*target* $\leq 7,0\%$ o ≤ 53 mmol/mol) e la variabilità glicemica (%CV *target* $\leq 36\%$).

RISULTATI

Tra il 2 novembre 2023 e il 18 gennaio 2024, tre pazienti (due uomini, una donna) affetti da diabete mellito di tipo 1 di lunga data sono stati sottoposti a trapianto di insule pancreatiche presso la UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas dell'AOUP, per un totale di 4 infusioni consecutive. Il paziente 1 è stato sottoposto ad una seconda infusione, a distanza di due mesi e mezzo dalla prima.

La *Tabella VII* riassume le caratteristiche cliniche più rilevanti di ciascun ricevente, incluso il controllo glicemico pre-trapianto (HbA1c e metriche ricavate dal sensore CGM).

Tabella VII – Caratteristiche cliniche dei riceventi

	Paziente 1	Paziente 2	Paziente 3
Età (anni)	52	46	23
Sesso (F o M)	M	F	M
Durata del diabete (anni)	30	24	19
Peso corporeo (Kg)	69	76	80
BMI (Kg/m ²)	20,4	29,7	29,4
Gruppo AB0	0+	0-	A+
Tempo in lista d'attesa (giorni)	13	59	83
Autoanticorpi (ICA/IAA)	ICA - / IAA -	ICA - / IAA +	ICA - / IAA +
Fabbisogno insulinico (UI/giorno)	26	52	79
Controllo glicemico			
HbA1c (%)	10,1	7,7	5,3
TIR (%)	2	46	/
TBR (%)	54-69mg/dL	0	4
	< 54 mg/dL	0	0
TAR (%)	181-250mg/dL	33	27
	> 250 mg/dL	65	23

Abbreviazioni: ICA/IAA: autoanticorpi anti-insula pancreatica e anti-insulina (IAA); HbA1c: emoglobina glicata; TIR: time in range; TBR: time below range; TAR: time above range.

In occasione della valutazione della candidabilità dei tre pazienti al trapianto di insule pancreatiche, è stata posta particolare attenzione all'anamnesi diabetologica, considerando lo stile di vita e il regime insulinico adottato, il controllo glicemico raggiunto e l'entità delle complicanze acute e croniche correlate al diabete.

Tutti i pazienti erano in terapia insulinica multiniettiva (MDI) e non utilizzavano il microinfusore per scelta. I pazienti 1 e 2 erano portatori di sensore CGM (*FreeStyle Libre 2*[®]); il paziente 3, invece, eseguiva automonitoraggio della glicemia con stick capillare, motivo per cui non sono note le statistiche ricavate dall'*AGP Report*.

Il paziente 1 presentava una storia di diabete di oltre 30 anni e, dall'anamnesi, emergeva una scarsa *compliance* nella gestione della malattia, con conseguente scarso controllo glicemico e livelli di glucosio giornalieri costantemente elevati (come riportato in *Tabella VII*: HbA1c=10,1%, TIR=2% e più del 60% del tempo trascorso con glicemie > 250 mg/dL). Questo, nel tempo, ha portato allo sviluppo di complicanze croniche, quali retinopatia, già trattata con laserterapia, e polineuropatia periferica, a seguito della quale il paziente era stato ricoverato nell'agosto 2021 per un flemmone ischemico al dito del piede destro. Inoltre, il paziente riferiva un precedente ricovero per chetoacidosi nel 2014.

La paziente 2, con diagnosi di diabete dall'età di 22 anni e scarso controllo glicemico tendente all'iperglicemia (TAR=50%), aveva sviluppato retinopatia diabetica (anche in questo caso già trattata con laserterapia) e nefropatia diabetica; a causa di quest'ultima, era già stata sottoposta ad un trapianto combinato rene-pancreas (SPK) in agosto 2020, complicato da espianto precoce del pancreas in prima giornata post-operatoria per trombosi del *graft*, e ad aprile 2021, ri-sottoposta ad un ritrapianto di pancreas isolato (PAK), nuovamente esitato in espianto dell'organo in seconda giornata post-operatoria per trombosi del *graft*. La funzionalità del *graft* renale, invece, si era sempre mantenuta ottimale.

Il paziente 3 presentava una storia di diabete da oltre 20 anni che, sebbene priva di evidenti complicanze croniche del diabete, era caratterizzata da frequenti episodi di ipoglicemia severa (con valori di glicemia registrati al glucometro inferiori a 40mg/dL), spesso tali da richiedere accessi in Pronto Soccorso. Il paziente, inoltre, riferiva difficoltà personali nell'utilizzo dei dispositivi tecnologici, utili per una migliore gestione del diabete.

Da un punto di vista immunologico, tutti i pazienti presentavano PRA (*Panel Reactivity Antibodies*, indice di immunizzazione comunemente utilizzato per definire il livello di rischio immunologico dei pazienti candidati a trapianto) pari a zero; tuttavia, la paziente 2, dati i due precedenti trapianti di pancreas, ed il paziente 1 alla seconda infusione, in quanto già sottoposto ad un trapianto di insule, sono stati considerati soggetti ad alto rischio immunologico.

Le caratteristiche dei donatori di pancreas utilizzati per eseguire le quattro infusioni sono riportate in *Tabella VIII*: in particolare, sono stati considerati l'età, il sesso, il peso corporeo ed il BMI, il valore di amilasi sieriche al momento del prelievo degli organi, la causa del decesso, la compatibilità di gruppo sanguigno con il ricevente e la tipologia di rischio. In merito a quest'ultima caratteristica, si evidenzia che solo un donatore, utilizzato per l'infusione di insule nel ricevente 2, presentava un rischio non standard, bensì trascurabile di tipo infettivologico per pregresse infezioni delle vie urinarie.

Tabella VIII – Caratteristiche dei donatori

	Paziente 1		Paziente 2	Paziente 3
	1^ Infusione	2^ Infusione		
Età (anni)	53	49	55	55
Sesso (F o M)	F	M	F	F
Peso Corporeo (Kg)	70	93	70	80
BMI (Kg/m ²)	24,8	27,2	24,2	31,3
Amilasi (U/L)	26	33	78	34
Causa del decesso	Emorragia cerebrale	Trauma cranico	Emorragia cerebrale	Emorragia cerebrale
Compatibilità AB0 (R/D)	0+/0+	0+/0+	0-/0+	A+/A+
Tipologia di Rischio	Standard	Standard	Trascurabile	Standard

Il processo di isolamento delle insule pancreatiche è stato svolto secondo la procedura illustrata nel *Paragrafo 4* del capitolo *Materiali e Metodi* e le caratteristiche più importanti delle insule isolate, quali IEQ, purezza e vitalità, sono state riassunte nella *Tabella IX*.

Inoltre, prima di procedere all'infusione, tutti i *cross-match* in citotossicità, eseguiti dal Laboratorio di Immunologia dei trapianti del NITp, risultavano negativi e la compatibilità di gruppo sanguigno AB0 tra donatore e ricevente era stata verificata (vedi *Tabella VIII*).

Tabella IX – Dati relativi al processo di isolamento e di infusione delle insule

	Paziente 1		Paziente 2	Paziente 3
	1^ Infusione	2^ Infusione		
Processo di isolamento				
Tempo di ischemia (ore)	7,0	9,8	7,2	6,2
IEQ post-purificazione	342280	654505	391530	895946
Purezza (%)	58	53	52	57
Vitalità (%)	92	84	92	92
Durata totale (ore)	20,8	27,0	25,5	25,2
Processo di infusione				
IEQ totali	309000	613927	323490	743192
IEQ/Kg	4414	9028	4256	9407
Numero di siringhe	5	5	7	9
Durata totale (min)	110	105	130	230
Pressione portale iniziale (mmHg)	6	8	15	13
Pressione portale finale (mmHg)	8	13	21	23

Nella *Figura 13* a pagina successiva è illustrato schematicamente il processo di isolamento ed infusione delle insule svolto presso il nostro Centro.

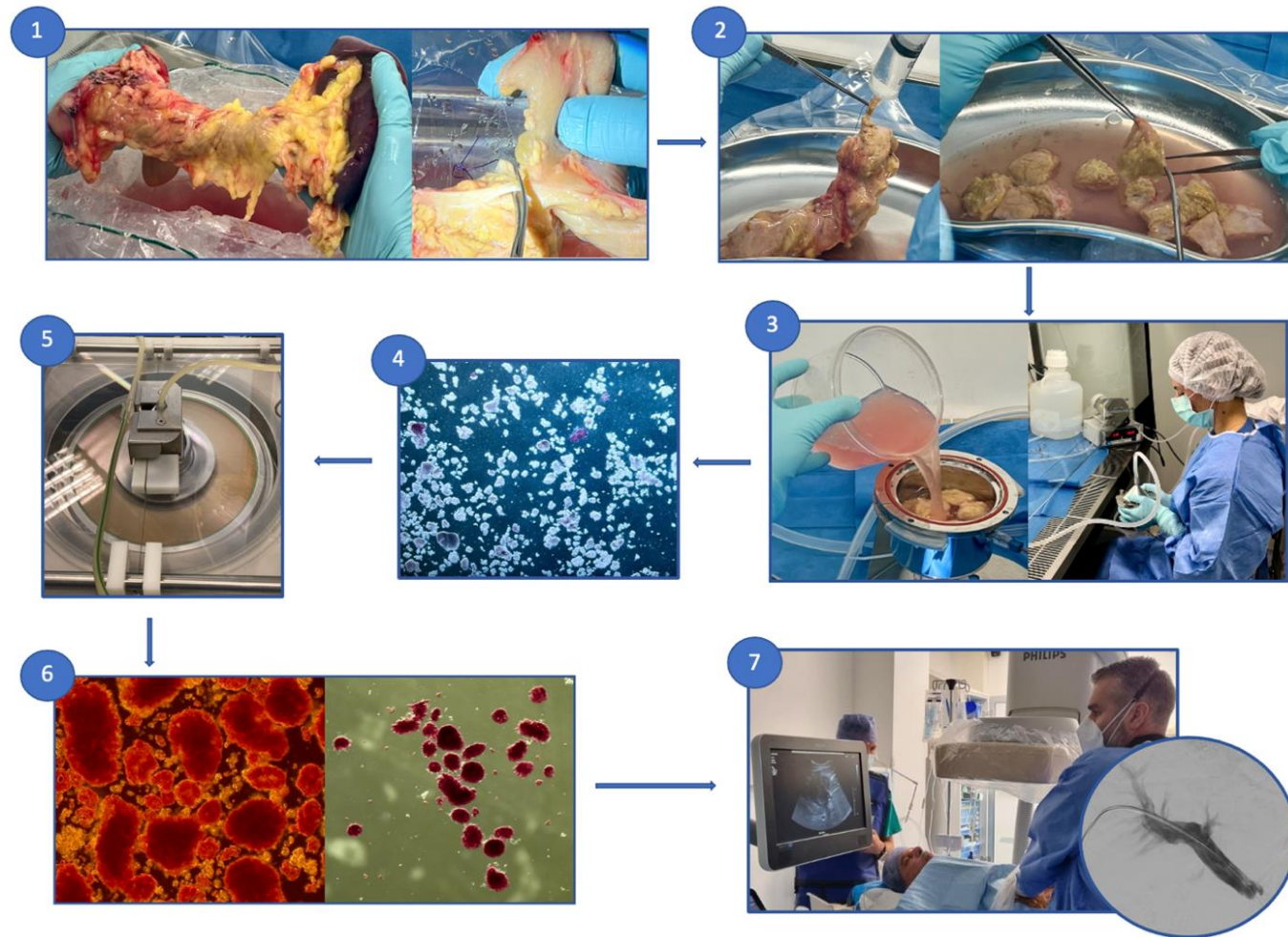


Figura 13 – Illustrazione schematica dell'intero processo di isolamento ed infusione delle insule svolto presso il nostro Centro: 1) Dissezione e decontaminazione del pancreas; 2) Perfusioni dei dotti pancreatici; 3) Digestione in Camera di Ricordi; 4) Tessuto pancreatico visto al microscopio prima della purificazione (insule colorate con DTZ); 5) Purificazione delle insule in centrifuga COBE 2991; 6) Insule pancreatiche purificate viste al microscopio ottico (colorate con DTZ); 7) Iniezione percutanea intra-portale ecoguidata in sala di Radiologia Interventistica e portografia preliminare

La procedura d'infusione è stata svolta in tutti i pazienti il giorno successivo alla processazione del pancreas, secondo la procedura descritta nel *Paragrafo 5* del capitolo *Materiali e Metodi*; la *Tabella IX* descrive la quantità totale di insule e il numero di siringhe infuse in ciascun paziente, la durata complessiva della procedura ed i valori di pressione portale registrati all'inizio e al termine dell'infusione.

Nessun paziente ha sviluppato complicanze peri e post procedurali; l'ecografia epatica, eseguita in prima giornata post-procedura in tutti i pazienti, non ha documentato sanguinamenti intraddominali e/o segni di trombosi venosa portale.

La *Tabella X* illustra schematicamente il regime immunosoppressivo adottato per ciascun paziente, fondato sui principi già descritti nel *Paragrafo 6.1* del capitolo *Materiali e Metodi*.

Nel caso del paziente 1, in occasione della seconda infusione, è stata preferito l'utilizzo di ATG come terapia di induzione (rispetto al Basiliximab utilizzato alla prima infusione), in quanto considerato soggetto a rischio immunologico più elevato dato il precedente trapianto di insule.

La paziente 2, invece, al momento del trapianto di insule si trovava già in trattamento immunosoppressivo con Tacrolimus *once daily* (Advagraf®), Metilprednisolone (Medrol®) e Acido Micofenolico, in quanto nefrotrapiantata con *graft* renale funzionante: pertanto, è stato deciso di proseguire con la terapia immunosoppressiva di mantenimento in corso (inclusa la terapia steroidea) e di utilizzare ATG per l'induzione, dato l'elevato rischio immunologico.

Tabella X – Regime immunosoppressivo

	Terapia d'induzione	Terapia di mantenimento
Paziente 1 – 1^ Infusione	Basiliximab (Simulect®)	Tacrolimus <i>twice daily</i> (Adoport®) Acido micofenolico
2^ Infusione	ATG (Dose totale 4,4 mg/Kg)	Tacrolimus <i>twice daily</i> (Adoport®) Acido micofenolico
Paziente 2	ATG (Dose totale 4,9 mg/Kg)	Tacrolimus <i>once daily</i> (Advagraf®) Acido micofenolico Metilprednisolone (Medrol®)
Paziente 3	Basiliximab (Simulect®)	Tacrolimus <i>twice daily</i> (Adoport®) Acido micofenolico

La *Figura 14* rappresenta l'andamento dei livelli di valle di Tacrolimus nei primi 7 giorni post-procedura, sulla cui base è stato quotidianamente modulato il dosaggio del farmaco. Inoltre, si sottolinea che al monitoraggio bioumorale eseguito quotidianamente durante il ricovero, nessun paziente ha mostrato segni di nefrotossicità da Tacrolimus e un solo paziente (il paziente 1 alla seconda infusione) ha sviluppato leucopenia in 4^a giornata post-procedurale che ha richiesto la riduzione del dosaggio di Acido Micofenolico da 720 mg x 2 volte/die a 360 mg x 2 volte/die.

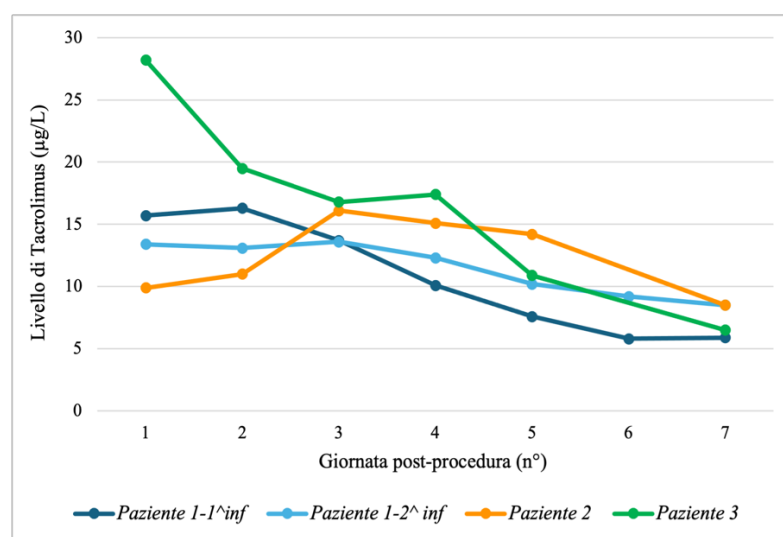


Figura 14 – Andamento dei livelli di tacroleemia nei primi 7 giorni

La restante terapia farmacologica è stata somministrata come descritto nel *Paragrafo 6.3* del capitolo *Materiali e Metodi*. Si evidenzia che, in occasione della seconda infusione del paziente 1, è stata evitata la somministrazione di Liraglutide a causa della scarsa tollerabilità del farmaco da parte del paziente in occasione della prima infusione (nausea e ripetuti episodi di vomito).

In tutte e quattro le infusioni, il successivo decorso clinico è stato caratterizzato da un progressivo aumento dei valori di C-peptide sia basale che post-prandiale, per tutta la durata del ricovero; l'andamento del C-peptide basale durante i primi 7 giorni di degenza è illustrato in *Figura 15*.

Contestualmente, fin dai primi giorni post-procedura, si è assistito ad un miglioramento del controllo glicemico, sulla cui base è stata calibrata la terapia insulinica. A partire dalla sospensione dell'infusione continua di insulina in pompa-

siringa, avvenuta in 2^a giornata post-procedurale per il paziente 1 (alla prima infusione) e per il paziente 3, e in 3^a giornata post-procedurale per il paziente 1 (alla seconda infusione) e per la paziente 2, è stata introdotta la somministrazione di insulina in regime *basal-bolus* con dosaggi a scalare, secondo consulenza diabetologica.

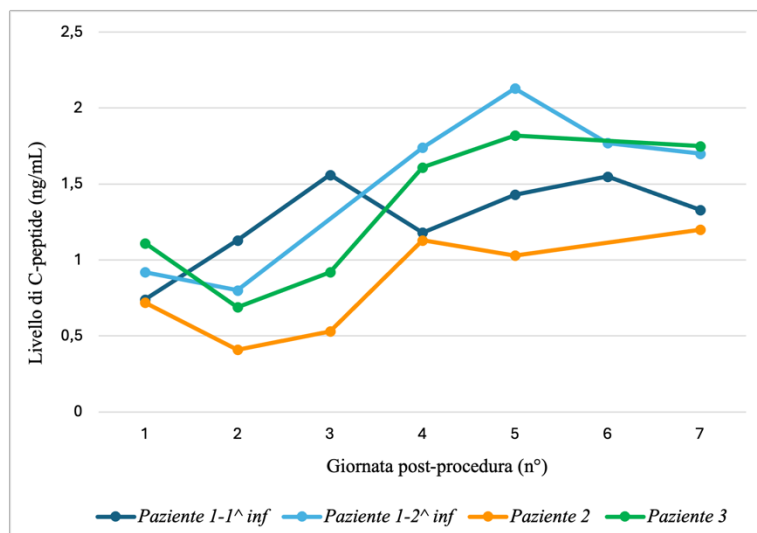


Figura 15 – Andamento dei livelli di C-peptide basale nei primi 7 giorni

Il paziente 1 è stato dimesso in 11^a giornata post-procedurale alla prima infusione e in 7^a giornata alla seconda infusione; i pazienti 2 e 3, invece, sono stati entrambi dimessi in 5^a giornata post-procedurale.

È stato poi proseguito il *follow-up* ambulatoriale secondo le tempistiche e modalità descritte precedentemente (*Paragrafo 8* del capitolo *Materiali e Metodi*).

Nelle successive *Figure 16-17-18-19* sono riportati i grafici dei profili giornalieri di glucosio e della percentuale di tempo trascorso all'interno dei diversi intervalli glicemici presenti negli *AGP Reports* dei 14 giorni successivi a ciascun trapianto.

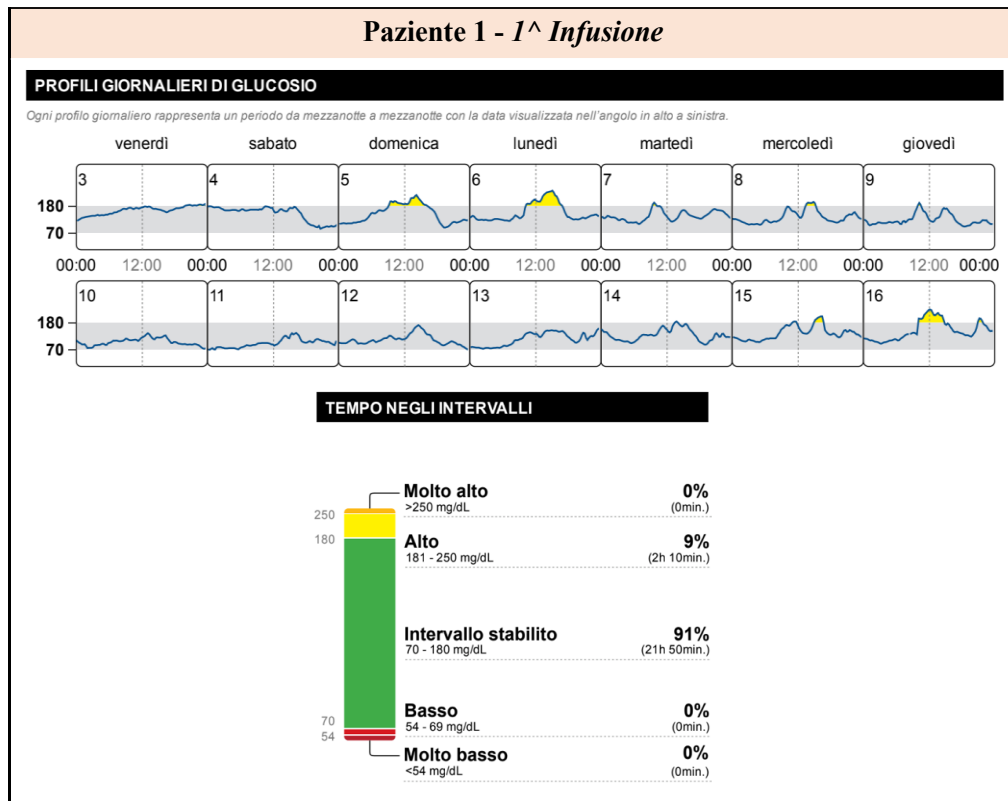


Figura 16 – Controllo glicemico del paziente 1 a 14 giorni dalla prima infusione

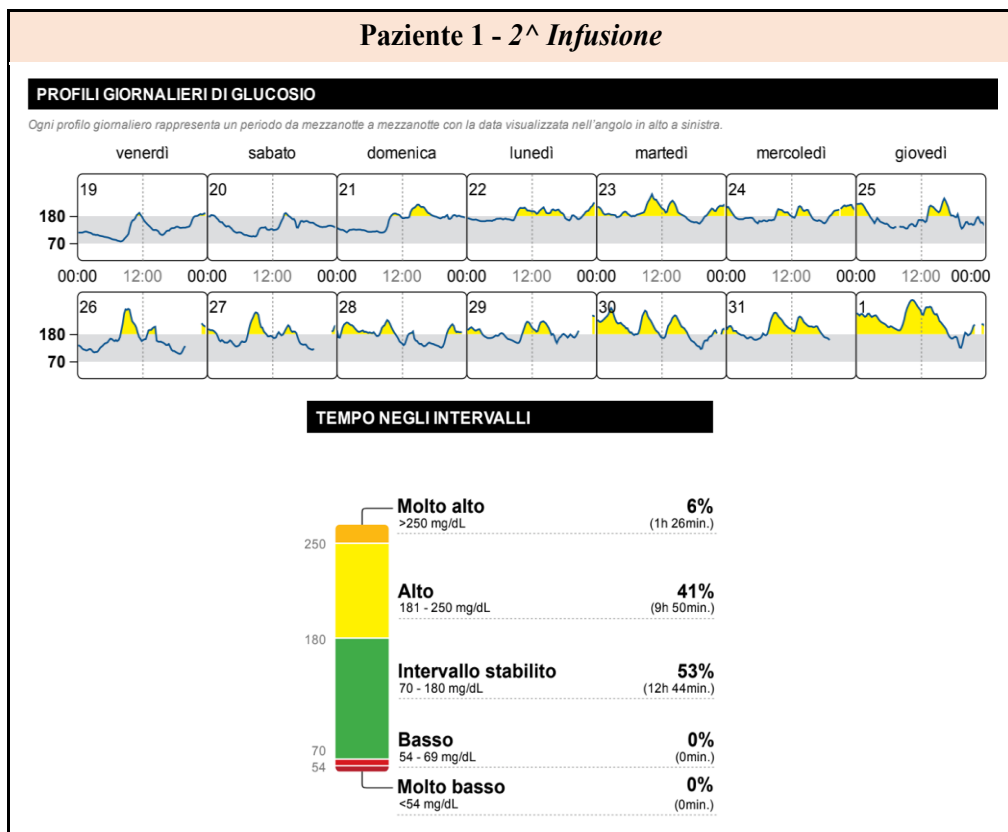


Figura 17 – Controllo glicemico del paziente 1 a 14 giorni dalla seconda infusione

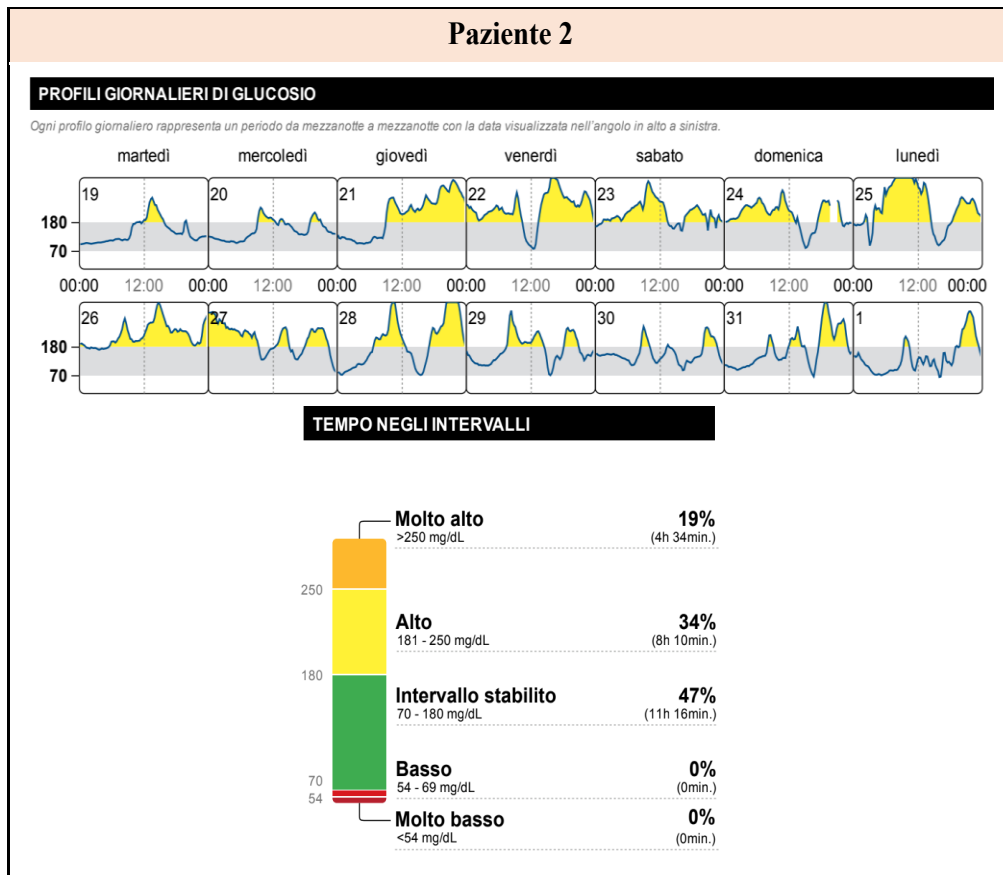


Figura 18 – Controllo glicemico della paziente 2 a 14 giorni dall'infusione

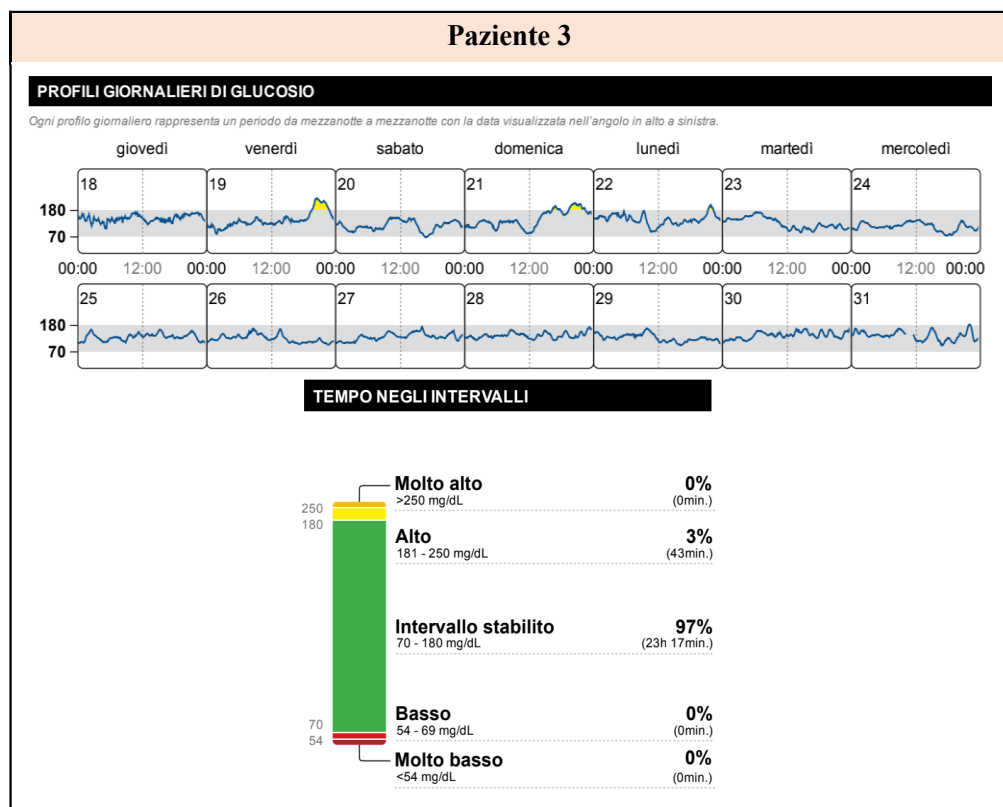


Figura 19 – Controllo glicemico del paziente 3 a 14 giorni dall'infusione

In merito alla valutazione dell'efficacia del trapianto, nelle *Tabelle XI e XII* sono riportati gli *endpoints* studiati rispettivamente ad 1 e 3 mesi da ciascuna infusione, fatta eccezione per la prima infusione nel paziente 1, di cui sono riportati i risultati solo ad 1 mese, dal momento che la seconda infusione è stata eseguita a meno di tre mesi dalla prima.

Tabella XI – Endpoints ad 1 mese di follow-up

	Glicemia a digiuno (mmol/L)	C-peptide basale (ng/mL) (nmol/L)		C-peptide post-prandiale (ng/mL) (nmol/L)		HbA1c (%)	Fabbisogno insulinico giornaliero (UI) (UI/Kg)		BETA-2 score	
Paziente 1	1^ Inf.	8,8	1,85	0,61	2,6	0,86	7,8	12	0,2	9,4
	2^ Inf.	12,2	0,59	0,20	1,7	0,56	8,3	14	0,2	3,5
Paziente 2		9,2	0,42	0,14	0,9	0,30	7,2	37	0,5	3,1
Paziente 3		6,5	2,36	0,79	2,2	0,73	5,7	4	0,1	22,6

Tabella XII – Endpoints a 3 mesi di follow-up

	Glicemia a digiuno (mmol/L)	C-peptide basale (ng/mL) (nmol/L)		C-peptide post-prandiale (ng/mL) (nmol/L)		HbA1c (%)	Fabbisogno insulinico giornaliero (UI) (UI/Kg)		BETA-2 score
Paziente 1 (2^ Infusione)	19,7	0,34	0,11	/	/	11,2	29	0,4	0,87
Paziente 2	10,5	0,10	0,03	/	/	8,0	46	0,6	0,82
Paziente 3	11,6	0,85	0,28	0,80	0,27	7,2	22	0,3	4,26

Definendo la funzionalità del *graft* β -cellulare come proposto dai recenti criteri di Igls 2.0⁸⁵, analizzati i livelli di C-peptide basale e post-prandiale, si evince che tutti i pazienti ad un mese dal trapianto hanno raggiunto una buona (*good*) *graft function*. Il *BETA-2 score* calcolato ad 1 mese dal trapianto risulta pari a 9,4 e 3,5 per il paziente 1 (rispettivamente dopo la prima e la seconda infusione), pari a 3,1 per la paziente 2 e pari a 22,6 per il paziente 3. Si sottolinea, inoltre, che il fabbisogno insulinico del paziente 3 riportato in *Tabella XI* (pari a 4 UI), include esclusivamente l'assunzione di insulina lenta: ad un mese dal trapianto, infatti, il paziente non presentava più la necessità di eseguire correzioni con insulina rapida nell'arco della giornata e, addirittura, le prime tre settimane successive al trapianto sono state caratterizzate da un breve periodo di insulino-indipendenza.

A tre mesi di *follow-up* post-procedura, sempre secondo i criteri di IglS 2.0, la funzionalità del *graft* della paziente 2 è da considerarsi al limite tra marginale (*marginal*) e fallimentare (*graft failure*), dato il valore di C-peptide basale pari a 0,1ng/mL (0,03 nmol/L); parimenti, il valore di *BETA-2 score* calcolato a 3 mesi dal trapianto dimostra un netto peggioramento della *graft function*. Anche nel caso del paziente 1, il valore di *BETA-2 score* a 3 mesi risulta abbondantemente ridotto. Alla luce di tale dato, considerato anche l'aumentato fabbisogno insulinico e il peggioramento del controllo glicemico dimostrato dagli *AGP Reports* (vedi *Tabella XIV*), si è provveduto al reinserimento in lista di entrambi i pazienti per nuova infusione di cellule pancreatiche e, per tale motivo, non sono più stati eseguiti i dosaggi periodici del C-peptide post-prandiale. Per il paziente 3, presentando valori di C-peptide basale pari a 0,85 ng/mL, si conferma una buona funzionalità del *graft* anche a 3 mesi dal trapianto.

Infine, i dati ricavati dall'*AGP Report* di ciascun paziente, che illustrano l'andamento del controllo glicemico rilevato dal sensore CGM durante i primi 30 e 90 giorni post-trapianto, sono stati riassunti rispettivamente nelle *Tabelle XIII e XIV* (anche in questo caso, non sono stati riportati i dati a 90 giorni dalla prima infusione nel paziente 1).

Tabella XIII – Metriche ricavate dall'AGP Report dei primi 30 giorni post-trapianto

	TIR (%)	TBR (%)		TAR (%)		Variabilità glicemica (%)	Glicemia media (mg/dL)	
		54-69 mg/dL	< 54 mg/dL	181-250 mg/dL	> 250 mg/dL			
Paziente 1	1^ Inf.	76	0	0	21	3	28,9	152
	2^ Inf.	32	0	0	36	32	31,7	220
Paziente 2	65	2	0	23	10	40,0	162	
Paziente 3	98	0	0	2	0	15,9	128	

Tabella XVI – Metriche ricavate dall'AGP Report dei primi 90 giorni post-trapianto

	TIR (%)	TBR (%)		TAR (%)		Variabilità glicemica (%)	Glicemia media (mg/dL)
		54-69 mg/dL	< 54 mg/dL	181-250 mg/dL	> 250 mg/dL		
Paziente 1 (2 ^a Infusione)	13	0	0	19	68	27,2	280
Paziente 2	47	2	0	28	23	44,5	197
Paziente 3	78	1	0	17	4	30,8	148

Il paziente 1, durante il primo mese post-trapianto, ha trascorso la maggior parte delle ore della giornata (76%) all'interno dell'intervallo glicemico target (70-180 mg/dL), mostrando solo una lieve tendenza all'iperglicemia durante la mattina e prime ore del pomeriggio. Tuttavia, nell'arco del mese successivo, l'andamento del profilo glicemico cambia nettamente tendenza con un TIR a 60 giorni dal trapianto pari al 25% e più del 75% del tempo trascorso in range iperglicemico, di cui il 30% con glicemia >250 mg/dL. Per tali ragioni, il paziente viene sottoposto ad una seconda infusione a circa due mesi e mezzo dalla prima. Tuttavia, l'andamento del profilo glicemico anche a tre mesi dal secondo trapianto di insule registra un TIR del 13%, un TAR di quasi il 90% e una glicemia media di 280 mg/dL, motivo per cui è attualmente in lista d'attesa per eseguire una terza infusione.

La paziente 2 ad un mese dal trapianto presenta un TIR del 65%, che scende al 47% a tre mesi, motivo per cui è anch'essa attualmente in lista per eseguire una seconda infusione; una caratteristica peculiare del suo profilo glicemico è l'elevata variabilità glicemica (CV=40% ad 1 mese; CV=44,5% a 3 mesi), passando da una spiccata tendenza all'iperglicemia (spesso >250 mg/dL) durante le ore del giorno ad eventi ipoglicemici (ma con glicemia mai inferiore a 54 mg/dL) nel corso della notte; tuttavia, non si sono mai verificati SHEs.

Il paziente 3 ad un mese dal trapianto trascorre più del 95% del tempo nel range glicemico target, mantenendo una glicemia media giornaliera di 128 mg/dL; tale *trend* positivo prosegue anche a 3 mesi dal trapianto, con un TIR=78%, un TAR ancora all'interno del target ed un TBR dell'1%, dimostrando di aver ottenuto un netto miglioramento in seguito al trapianto, dal momento che il suo controllo glicemico pre-trapianto era caratterizzato da frequenti SHEs.

DISCUSSIONE

L'allotrapianto di insule pancreatiche rappresenta una promettente opzione terapeutica per i pazienti con diabete mellito di tipo 1 incapaci di mantenere un adeguato controllo glicemico, nonostante una gestione intensiva della terapia insulinica e l'uso di tecnologie avanzate di monitoraggio della glicemia.

Il presente studio ha descritto i primi quattro casi di allotrapianto di insule eseguiti presso il nuovo l'UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas dell'AOUP e ha analizzato i risultati clinici e funzionali ottenuti.

Innanzitutto, è fondamentale sottolineare fin da subito che il trapianto di insule pancreatiche (ITx) risulta difficilmente comparabile con il trapianto di pancreas solido (PTx) in termini di *outcome*, a causa delle diverse caratteristiche dei donatori impiegati, della diversa procedura trapiantologica, nonché dei differenti regimi immunosoppressivi impiegati⁶⁰.

Come dimostrato nella più grande analisi comparativa su singolo centro pubblicata in aprile 2023 su *Annals of Surgery* – dopo aver studiato una coorte di pazienti trapiantati (che includeva 266 ITx e 146 PTx) in *follow-up* per oltre vent'anni – il trapianto di pancreas solido è un'opzione di terapia sostitutiva con β -cellule ormai consolidata nella pratica clinica, capace di garantire indipendenza dalla terapia insulinica in più del 90% dei casi, così come un'ottima *graft survival* e un buon controllo glicemico nel lungo termine; allo stesso tempo, però, tale soluzione richiede un intervento chirurgico maggiore, associato ad un maggior tasso di complicanze peri-operatorie e mortalità, e presenta, perciò, criteri di eleggibilità più restrittivi per i riceventi. Al contrario, il trapianto di insule pancreatiche si dimostra vantaggioso in termini di controllo glicemico e riduzione di SHEs, pur garantendo un periodo inferiore di insulino-indipendenza, ma, essendo una procedura mininvasiva, si associa ad un minor tasso di morbidità e presenta criteri di eleggibilità più ampi per i riceventi⁹². Pertanto, come affermato da M. R. Rickels e R. P. Robertson in una *review* pubblicata nel 2019, il trapianto di insule ed il trapianto di pancreas dovrebbero essere considerati due trattamenti non competitivi, bensì complementari, per i pazienti affetti da T1D candidati a terapia sostitutiva β -cellulare, bilanciando i rischi e i benefici clinici caso per caso⁷⁸.

Nella selezione dei riceventi per il presente studio, la scelta è stata accuratamente ponderata sulla base dell'anamnesi diabetologica, prestando particolare attenzione alla gravità e alla velocità di progressione delle complicanze acute e croniche del diabete in ciascun paziente. Inoltre, nessuno dei pazienti selezionati presentava nefropatia diabetica, condizione che controindica il trapianto di insule, e, nel caso della paziente 2, eseguire un terzo trapianto d'organo solido avrebbe chiaramente rappresentato un rischio chirurgico troppo elevato. A questo proposito, il trapianto di insule eseguito dopo il fallimento di un precedente trapianto di pancreas, in particolare in pazienti sottoposti a trapianto SPK con *graft* renale ancora funzionante (e trattandosi, quindi, di un trapianto IAK), si è dimostrato un metodo sicuro ed efficace per migliorare il controllo glicemico, riducendo soprattutto l'incidenza di ipoglicemia grave e proteggendo il rene trapiantato dalla ricomparsa di nefropatia diabetica⁹³.

Anche nella definizione del concetto di sopravviveva del *graft* (*graft survival*) ITx e PTx risultano difficilmente confrontabili.

Storicamente, il criterio utilizzato per definire la sopravvivenza del *graft* dopo il trapianto di pancreas come organo solido è stata l'indipendenza dalla terapia insulinica. Esclusi i casi in cui è necessario eseguire l'espianto del pancreas per ragioni chirurgiche, ad oggi la *death-censored graft failure* pancreatica è definita come la perdita dell'indipendenza dal trattamento insulinico raggiunta in seguito al trapianto, quantificata come l'assunzione di $\geq 0,5$ IU/kg/die di insulina esogena per almeno 90 giorni consecutivi⁹⁴. Tale definizione è indipendente dal grado di controllo glicemico e, soprattutto, dai livelli di C-peptide, per i quali non è mai stata dimostrata alcuna correlazione con il fenomeno della *graft failure* pancreatica⁹⁵.

Queste considerazioni, invece, non si sono dimostrate valide per il trapianto di insule.

Nel 2006, Shapiro et al. pubblicarono i risultati del *follow-up* a lungo termine di pazienti con T1D trattati con trapianto di insule pancreatiche in nove siti internazionali secondo il Protocollo di Edmonton. Di 36 pazienti inclusi nello studio, il 58% aveva raggiunto l'indipendenza insulinica in presenza di un adeguato controllo glicemico ($HbA1c < 6,5\%$) ad un dato momento del *follow-up*; tuttavia, il 76% di questi pazienti aveva richiesto nuovamente l'assunzione di insulina esogena

a due anni dal trapianto. D'altra parte, tutti i pazienti che avevano mantenuto una parziale funzionalità del *graft* β -cellulare (*partial graft function*, definita in tale trial da livelli di C-peptide >0.3 ng/mL), pur in assenza di insulino-indipendenza, dimostravano un sostanziale miglioramento clinico nel controllo glicemico ed una completa protezione da eventi di ipoglicemia severa.

Al termine di questo *trial*, quindi, si concludeva che l'ITx era capace di ripristinare con successo la produzione endogena di insulina a lungo termine e di garantire stabilità glicemica in soggetti con T1D e controllo glicemico instabile, ma l'indipendenza dalla terapia insulinica non poteva essere sostenibile nel tempo; la persistente funzionalità del *graft* β -cellulare, invece, era di per sé in grado – anche in assenza di insulino-indipendenza – sia di proteggere i pazienti trapiantati da eventi ipoglicemici severi, sia di migliorarne i livelli di emoglobina glicata⁹⁶.

Pertanto, nel trapianto di insule pancreatiche, l'indipendenza dalla terapia insulinica, non può essere considerato l'*endpoint* primario per definire la *graft function* nel lungo periodo, così come non può rappresentare il parametro più adeguato per valutare il successo clinico a lungo termine di questa opzione terapeutica⁹⁶.

Negli anni successivi, diversi studi si sono focalizzati sulla necessità di trovare validi parametri per definire la *graft survival* nel trapianto di insule pancreatiche e la relativa efficacia clinica⁹⁷. Nel gennaio 2017, l'*International Pancreas and Islet Transplant Association* (IPITA) e la *European Pancreas and Islet Transplant Association* (EPITA), in occasione di un *workshop* tenutosi ad Igls (in Austria), hanno definito per la prima volta in modo standardizzato gli *outcome* funzionali e clinici della terapia β -cellulare, oggi conosciuti come criteri di Igls.

I criteri di Igls definiscono la funzione del *graft* β -cellulare come ottimale, buona, marginale o fallimentare, combinando quattro parametri: emoglobina glicata, eventi di ipoglicemia grave (SHEs), fabbisogno insulinico e livelli di C-peptide. Secondo tali criteri, solo i trapianti che esitano in una *graft function* ottimale o buona sono considerati un successo clinico⁸⁴.

Combinando i parametri che definiscono il successo clinico in termini di controllo glicemico ed omeostasi del glucosio (HbA1c e SHE) con quelli che definiscono il successo in termini di *graft function* (C-peptide e fabbisogno insulinico), i criteri di

Igls si sono dimostrati utili non solo per il *follow-up* a lungo termine di ciascun paziente trapiantato, ma anche per il confronto trasversale tra i risultati delle diverse alternative di terapia di sostituzione delle β -cellule (in primis ITx e PTx).

Tuttavia, dopo due anni di applicazione nella pratica clinica, durante il 17° Congresso Mondiale IPITA, i criteri di Igls sono stati riesaminati, sottolineandone alcuni limiti: in primo luogo, nella valutazione del controllo glicemico non prendevano in considerazione le metriche ricavate dal CGM, precludendo sia la misurazione del tempo effettivo trascorso in *range* ipoglicemico grave (dato di notevole importanza, poichè l'ipoglicemia severa è una delle principali indicazioni per la terapia sostitutiva con β -cellule) sia il confronto diretto con i sistemi di pancreas artificiale; in secondo luogo, il fabbisogno insulinico è influenzato da numerosi fattori (dieta, esercizio fisico, funzionalità renale, assunzione cronica di glucocorticoidi ecc.) e includerlo tra i parametri che determinano la *graft function* poteva essere fuorviante; infine, utilizzando una definizione dicotomica per l'esito della terapia di sostituzione delle β -cellule (“successo” o “fallimento”) non si consideravano affatto i benefici clinici associati ad una *graft function* marginale⁸⁵.

Alla luce di tali criticità, sono stati proposti i criteri di Igls 2.0, in cui la definizione dell'*outcome* clinico del trattamento è separata e indipendente da quella della funzionalità del *graft* β -cellulare e l'*outcome* clinico da solo è sufficiente per definire il successo o il fallimento del trapianto. I parametri che definiscono l'*outcome* clinico del trapianto sono il controllo glicemico e l'ipoglicemia, valutati attraverso i valori di TIR e TBR (nei pazienti portatori di sensore CGM) oppure attraverso l'HbA1c e la frequenza di SHE (in coloro che non ne fanno uso).

I livelli di C-peptide ed il fabbisogno insulinico, invece, sono diventati dei parametri supplementari, da considerare solo qualora si voglia valutare la *graft function*: in particolare, nella definizione di quest'ultima, assume molta più importanza il livello di C-peptide, sia stimolato che a digiuno (“*fasting*”), in qualità di misura funzionale della secrezione insulinica da parte delle β -cellule neo-trapiantate; il fabbisogno insulinico, invece, è determinante solo per poter definire una *graft function* “ottimale” (*optimal*)⁸⁵.

Secondo i criteri di Igls 2.0 una *good graft function* è definita da livelli di C-peptide stimolato > 0.5 ng/mL (corrispondenti a C-peptide a digiuno $\geq 0,2$ ng/mL): questa

soglia, infatti, è già stata associata ad un ridotto rischio di eventi ipoglicemici gravi e di sviluppo e progressione delle complicanze microvascolari nello studio *Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)*⁹⁸ e, pertanto, dovrebbe continuare a rappresentare il valore target di C-peptide da raggiungere con il trattamento sostitutivo β -cellulare. Un livello di C-peptide al di sotto di questa soglia, ma pari almeno a 0,3 ng/mL stimolato o 0,1 ng/mL a digiuno, è compatibile con una *marginal graft function*; infine, solo in presenza di un livello di C-peptide stimolato < 0,3 ng/mL (o < 0,1 ng/mL a digiuno) si può parlare di *graft failure*⁸⁵.

La misurazione del C-peptide, in qualità di marker della produzione endogena di insulina da parte delle β -cellule neo-infuse, fornisce quindi una stima del contributo delle insule trapiantate al controllo glicemico, permettendo di determinare se i miglioramenti nell'HbA1c e nelle metriche del CGM siano dovuti a modifiche nella somministrazione dell'insulina o ad un'efficace funzione secretoria del trapianto di cellule β ⁸⁵. Un buon controllo glicemico post-trapianto, infatti, potrebbe essere mantenuto a spese di un fabbisogno insulinico addirittura superiore rispetto al periodo pre-infusione e, in tal caso, bassi livelli ematici di C-peptide indicherebbero il fallimento del trapianto, nonostante l'*outcome* clinico apparentemente positivo. D'altra parte, in un paziente che ha interrotto il trattamento insulinico dopo il trapianto ma non raggiunge i target di controllo glicemico stabiliti, misurando i livelli di C-peptide si potrebbe rilevare una scarsa funzionalità delle cellule β e, nonostante l'illusoria condizione di insulino-indipendenza, non si potrebbe parlare di pieno successo terapeutico⁸⁴.

Come dimostrato dalla stesura dei criteri di Igls e Igls 2.0, e ribadito dalle precedenti osservazioni, i livelli di C-peptide, il fabbisogno insulinico e il controllo glicemico sono tutti parametri interdipendenti che contribuiscono a definire il successo del trapianto di insule e, per questo, è opportuno che vengano integrate nella valutazione della *graft function*. A tal proposito, in letteratura è stato proposto l'utilizzo di uno *score* composito che combinasse il fabbisogno insulinico con i valori di C-peptide stimolato, HbA1c e glicemia plasmatica: il *Beta score*⁹⁹. Tale punteggio è stato poi modificato sostituendo il valore di C-peptide stimolato con quello misurato a digiuno, ottenendo, così, il *BETA-2 score*, una variabile continua più accurata e più facilmente misurabile attraverso un semplice prelievo ematico

eseguito a digiuno⁹⁰. Un grande studio osservazionale, retrospettivo e multicentrico, basato sui dati raccolti dal CITR (*Collaborative Islet Transplant Registry*) e recentemente pubblicato su *The Lancet*, ha dimostrato un'associazione lineare e inversa tra la *primary graft function* (definita come la funzionalità del *graft* ad un mese dall'ultima infusione, calcolata attraverso il *BETA-2 score*) e un'incidenza cumulativa a 5 anni di insuccesso del trapianto di isole del 70,7%; tale associazione, inoltre, risulta indipendente da qualsiasi altro fattore confondente (caratteristiche del ricevente, IEQ infusi, numero di infusioni, regime immunosoppressivo adottato)¹⁰⁰.

Alla luce di tali osservazioni, nel presente studio, per valutare la *graft function* e l'*outcome* clinico dei trapianti di isole sono stati utilizzati i criteri di Igls 2.0 e il *BETA-2 score*.

Confrontando i risultati ottenuti con i criteri di Igls 2.0, tutti i pazienti ad un mese dal trapianto hanno raggiunto una buona (*good*) *graft function*.

A tre mesi di *follow-up* post-procedura, i risultati ottenuti nei tre diversi pazienti appaiono, invece, molto eterogenei.

Il paziente 1, nonostante una *graft function* definibile ancora buona dopo la seconda infusione (dato il livello di C-peptide a digiuno pari a 0,34 ng/mL), presenta un *outcome* clinico marginale, in quanto il TIR post-trapianto (13%), seppur nettamente inferiore all'intervallo target, risulta superiore rispetto a quello pre-trapianto (2%).

La paziente 2 presenta una *graft function* che è da considerarsi al limite tra marginale (*marginal*) e fallimentare (*graft failure*) ed il trapianto risulta clinicamente fallito, in quanto il TIR pre e post-procedura è rimasto pressoché invariato (46% vs 47%).

Il paziente 3, invece, presenta sia una buona *graft function* che un buon *outcome* clinico a 3 mesi dal trapianto. Tale paziente, nonostante livelli di C-peptide ben oltre il valore soglia, non raggiunge una *graft function* definibile "ottimale" secondo i criteri di Igls 2.0 a causa della continua assunzione di terapia insulinica; tuttavia, si sottolinea che il fabbisogno insulinico giornaliero a 3 mesi dall'infusione è ridotto ad un quarto rispetto a quello pre-trapianto (79 UI pre-trapianto vs 22 UI post-trapianto). Inoltre, anche le metriche ricavate dall'*AGP Reports* del paziente 3 confermano un eccellente controllo glicemico ad un mese dal trapianto (TIR = 98%,

con variabilità glicemica del 15,9%), che si è mantenuto ottimale e all'interno di tutti gli intervalli target anche a 3 mesi dall'infusione.

Applicando alla nostra casistica il *BETA-2 score* calcolato ad 1 e 3 mesi dall'infusione, l'andamento della *graft function* risulta concorde con quanto appena illustrato. Ad un mese di *follow-up*, la funzionalità del *graft* del paziente 3 (*BETA-2 score* = 22,6) è nettamente superiore rispetto a quella degli altri due riceventi, tant'è vero che questo paziente ha attraversato un breve periodo di insulino-indipendenza nelle prime settimane post-trapianto; a tre mesi dall'infusione, si osserva un peggioramento della *graft function* in tutti i pazienti, molto più netto per i pazienti 1 e 2, che presentano valori di *BETA-2 score* prossimi allo zero.

I risultati delle 4 infusioni hanno dimostrato un'ampia varietà tra i pazienti, nonostante i processi di isolamento e infusione siano avvenuti con le stesse tempistiche e modalità per tutti i pazienti, seguendo il protocollo illustrato precedentemente, incluso quello farmacologico.

Quanto a quest'ultimo, i livelli di tacrolemia misurata nei primi sette giorni post-procedura sono risultati piuttosto omogenei in tutti i pazienti, raggiungendo il *target trough level* raccomandato di 8-10 µg/L attorno alla quinta o sesta giornata post-trapianto. Per nessun paziente sono stati rilevati segni di nefrotossicità farmaco-indotta durante il periodo di *follow-up*: a questo proposito, uno studio trasversale ha dimostrato che la progressione della malattia renale è più rapida nei pazienti con *brittle diabetes* in trattamento insulinico rispetto a quelli sottoposti a trapianto di insule che assumono una dose terapeutica di Tacrolimus a vita⁶⁷.

Inoltre, il presente studio ha previsto la somministrazione di due farmaci aggiuntivi, Etanercept e Liraglutide, la cui combinazione ha già dimostrato di poter migliorare la funzionalità del *graft* e facilitare il raggiungimento dell'insulino-indipendenza anche in caso di utilizzo di un numero di insule (IEQ) significativamente più basso⁸⁹.

Etanercept è una proteina di fusione dimerica che lega e disattiva il TNF α , molecola chiave nella regolazione della risposta immunitaria infiammatoria che si è dimostrata tossica per le β -cellule pancreatiche¹⁰¹. La somministrazione di Etanercept in fase peri-trapiantologica è stata documentata per la prima volta da Hering et al. dell'*University of Minnesota*, dimostrando un miglior attecchimento

del *graft* e, di conseguenza, un miglioramento nella funzionalità e nella sopravvivenza delle insule nel breve e lungo termine¹⁰².

Liraglutide è un farmaco analogo sintetico del GLP-1 (*Glucagon-like peptide-1*, ormone intestinale rilasciato dopo il pasto che stimola la secrezione di insulina e inibisce quella di glucagone da parte del pancreas) capace di migliorare la sopravvivenza del *graft* e stimolare la secrezione insulinica da parte delle β -cellule neo-infuse, grazie ai suoi effetti anti-infiammatori, anti-apoptotici e neo-angiogenici dimostrati sia in vitro sia in vivo¹⁰³. Nel caso del paziente 1, tale farmaco non è stato somministrato in occasione della seconda infusione a causa della scarsa tollerabilità osservata dopo la prima somministrazione, caratterizzata da episodi di nausea e vomito: tali effetti collaterali sono, tuttavia, stati associati all'assunzione di questo farmaco anche in letteratura⁸⁹.

Una probabile spiegazione dell'andamento eterogeneo della *graft function* potrebbe risiedere nella quantità totale di insule (IEQ/Kg) infuse nei riceventi, nettamente più ridotta per il paziente 1 alla prima infusione e per la paziente 2, rispetto al paziente 3. Inoltre, analizzando le caratteristiche dei donatori, emerge che quest'ultimo ha ricevuto un donatore obeso (BMI pari a 31,3 Kg/m²) e di età superiore a 50 anni, e i tempi di ischemia fredda sono stati molto contenuti (6,2 ore) tutte condizioni favorevoli per un buon *outcome* nel trapianto di insule pancreatiche⁶⁵. Tuttavia, la ridotta numerosità dei casi del nostro studio non consente un'analisi multivariata che possa confermare tale dato.

Oltre alla scarsa numerosità di IEQ/Kg, un altro fattore confondente che potrebbe forse giustificare il peggior *outcome* del trapianto nel caso della paziente 2 è l'assunzione di terapia steroidea cronica, iniziata ancora prima del trapianto di insule (in quanto nefrotrapiantata con *graft* renale funzionante) e poi proseguita successivamente: instaurare un regime immunosoppressivo che eviti l'effetto diabetogeno dei corticosteroidi, infatti, è un pilastro fondamentale del trapianto di insule pancreatiche sin dall'avvento del Protocollo di Edmonton⁷⁵. Inoltre, anche in letteratura è stata dimostrata una maggior sopravvivenza del *graft* nei trapianti ITA rispetto ai trapianti IAK (*graft survival* a 6 anni superiore all'80% per ITA e pari solo al 50% per IAK)¹⁰⁴.

Un dato di notevole rilievo che emerge dai risultati del nostro studio è la riduzione complessiva del tempo giornaliero trascorso in ipoglicemia dopo il trapianto e, soprattutto, l'assenza totale di episodi di ipoglicemia severa in tutti i pazienti trapiantati. Questo risultato è particolarmente significativo per il paziente 3, in quanto i multipli episodi di ipoglicemia severa (con valori di glicemia registrati al glucometro inferiori a 40mg/dL e spesso tali da richiedere l'accesso in Pronto Soccorso) avevano costituito la principale indicazione all'inserimento in lista per il trapianto di insule, ma è riscontrabile anche negli *AGP Reports* della paziente 2, che hanno documentato una riduzione del TBR dal 4% pre-trapianto al 2% a 3 mesi dalla procedura. Quindi, anche in presenza di una *graft function* marginale, anche nel nostro studio il trapianto di insule si conferma capace di proteggere i pazienti da futuri episodi ipoglicemici severi, seppur in assenza di indipendenza dalla terapia insulinica, come già dimostrato incontrovertibilmente da numerosi studi^{105,106}. Dal punto di vista fisiopatologico, infatti, la secrezione controregolatoria di glucagone in risposta all'ipoglicemia viene parzialmente ripristinata dopo il trapianto di insule – si pensa attraverso l'instaurarsi di interazioni paracrine tra le cellule α , secernenti glucagone, e le cellule β neo-trapiantate, secernenti insulina – e tale beneficio può essere sostenuto nel tempo anche grazie alla reintroduzione della terapia insulinica qualora sia necessario, facendo sì che oltre il 90% dei pazienti riceventi un trapianto di insule non sperimenti più episodi di ipoglicemia grave per almeno 5 anni⁹⁷.

Nonostante questo risultato estremamente positivo relativamente alla gestione delle ipoglicemie, stanti l'andamento glicemico complessivo, il fabbisogno insulinico (ritornato pressoché pari a quello dell'epoca pre-trapianto) e il calo dei livelli di C-peptide, i pazienti 1 e 2 sono stati reinseriti in lista d'attesa per eseguire, rispettivamente, una terza e seconda infusione di cellule. L'esecuzione di multiple infusioni, pur rappresentando un evento immunizzante che aumenta il rischio immunologico dei pazienti candidati a trapianto⁹², è uno scenario del tutto comune nella letteratura mondiale del trapianto di insule, in quanto spesso necessario per arrivare ad infondere una massa di insule tale da poter garantire un controllo glicemico pressoché fisiologico⁷². Inoltre, è doveroso sottolineare che eseguire un ri-trapianto di insule ha un profilo di sicurezza ed una fattibilità nettamente superiore rispetto a candidare il paziente ad un ri-trapianto di organo solido.

CONCLUSIONI

In conclusione, nonostante il nuovo programma di allotrapianto di insule pancreatiche sviluppato presso la UOC Chirurgia dei Trapianti di Rene e Pancreas dell'Azienda Ospedale-Università di Padova sia ancora agli albori e la ridotta numerosità dei casi, così come la brevità del periodo di *follow-up*, siano due evidenti limiti del nostro studio, i dati emersi risultano complessivamente concordi con quanto riscontrato in letteratura.

Contrariamente al trapianto di pancreas solido, l'indipendenza dal trattamento insulinico non deve rappresentare l'obiettivo primario del trapianto di insule pancreatiche. La valutazione della sua efficacia risiede nella dimostrata capacità di migliorare il controllo glicemico nei pazienti con T1D rispetto all'epoca pre-trapianto, con particolare riguardo alla riduzione del tempo trascorso in ipoglicemia e alla prevenzione degli episodi di ipoglicemia severa a lungo termine. Per tale motivo, il diabete di tipo 1 complicato da frequenti episodi ipoglicemici severi, *hypoglycemia unawareness* e/o variabilità glicemica estrema, nonostante l'ottimizzazione della terapia insulinica e l'uso di tecnologie avanzate di monitoraggio della glicemia, rimane la principale indicazione all'allograpianto di insule. Questa procedura, inoltre, rappresenta la migliore opzione terapeutica disponibile dopo il fallimento di uno o più precedenti trapianti di pancreas solido. D'altro canto, la progressiva perdita di funzionalità del *graft* β -cellulare, e con essa dei miglioramenti metabolici raggiunti, è una criticità del trapianto di insule universalmente riconosciuta nel panorama della letteratura mondiale. Per questo, non è per nulla eccezionale la necessità di eseguire infusioni multiple, con il fine di garantire al paziente una quantità di insule sufficiente da poter ristabilire un controllo glicemico pressoché fisiologico.

Resta fondamentale eseguire un'attenta selezione dei candidati all'allograpianto di insule, bilanciando caso per caso rischi e benefici clinici, in quanto, pur trattandosi di una procedura minimamente invasiva associata ad un basso tasso di morbidità, l'indicazione ad oggi, resta limitata dalla necessità di intraprendere nel ricevente una terapia immunosoppressiva sistemica cronica non del tutto scevra da effetti collaterali.

BIBLIOGRAFIA

1. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2014;383(9911):69-82. doi:10.1016/S0140-6736(13)60591-7
2. Epidemiology, presentation, and diagnosis of type 1 diabetes mellitus in children and adolescents - UpToDate. Accessed May 7, 2024. https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-presentation-and-diagnosis-of-type-1-diabetes-mellitus-in-children-and-adolescents?search=diabete%20tipo%201&source=search_result&selectedTitle=1%7E150&usage_type=default&display_rank=1
3. Salute M della. Diabete mellito tipo 1. Accessed May 7, 2024. <https://www.salute.gov.it/portale/nutrizione/dettaglioContenutiNutrizione.jsp?lingua=italiano&id=5546&area=nutrizione&menu=croniche>
4. Green A, Hede SM, Patterson CC, et al. Type 1 diabetes in 2017: global estimates of incident and prevalent cases in children and adults. *Diabetologia*. 2021;64(12):2741-2750. doi:10.1007/s00125-021-05571-8
5. Vanderniet JA, Jenkins AJ, Donaghue KC. Epidemiology of Type 1 Diabetes. *Curr Cardiol Rep*. 2022;24(10):1455-1465. doi:10.1007/s11886-022-01762-w
6. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2018;391(10138):2449-2462. doi:10.1016/S0140-6736(18)31320-5
7. Ilonen J, Lempainen J, Veijola R. The heterogeneous pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2019;15(11):635-650. doi:10.1038/s41574-019-0254-y
8. Syed FZ. Type 1 Diabetes Mellitus. *Ann Intern Med*. 2022;175(3):ITC33-ITC48. doi:10.7326/AITC202203150
9. Insel RA, Dunne JL, Atkinson MA, et al. Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRF, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2015;38(10):1964-1974. doi:10.2337/dc15-1419
10. Buzzetti R, Zampetti S, Maddaloni E. Adult-onset autoimmune diabetes: current knowledge and implications for management. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(11):674-686. doi:10.1038/nrendo.2017.99

11. Rajkumar V, Levine SN. Latent Autoimmune Diabetes. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2024. Accessed May 11, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557897/>
12. American Diabetes Association Professional Practice Committee, ElSayed NA, Aleppo G, et al. 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: *Standards of Care in Diabetes—2024*. *Diabetes Care*. 2024;47(Supplement_1):S20-S42. doi:10.2337/dc24-S002
13. Libman I, Haynes A, Lyons S, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2022: Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes*. 2022;23(8):1160-1174. doi:10.1111/pedi.13454
14. McDonald TJ, Perry MH. Detection of C-Peptide in Urine as a Measure of Ongoing Beta Cell Function. *Methods Mol Biol*. 2016;1433:93-102. doi:10.1007/7651_2016_330
15. Calimag APP, Chlebek S, Lerma EV, Chaiban JT. Diabetic ketoacidosis. *Disease-a-Month*. 2023;69(3):101418. doi:10.1016/j.disamonth.2022.101418
16. Farsani SF, Brodovicz K, Soleymanlou N, Marquard J, Wissinger E, Maiese BA. Incidence and prevalence of diabetic ketoacidosis (DKA) among adults with type 1 diabetes mellitus (T1D): a systematic literature review. *Open Access*.
17. Modi A, Agrawal A, Morgan F. Euglycemic Diabetic Ketoacidosis: A Review. *Curr Diabetes Rev*. 2017;13(3):315-321. doi:10.2174/1573399812666160421121307
18. Muneer M. Hypoglycaemia. In: *Diabetes: From Research to Clinical Practice*. Springer, Cham; 2020:43-69. doi:10.1007/5584_2020_534
19. Hypoglycemia in adults with diabetes mellitus - UpToDate. Accessed May 14, 2024. https://www.uptodate.com/contents/hypoglycemia-in-adults-with-diabetes-mellitus?search=Hypoglycemia%20in%20adults%20with%20diabetes%20mellitus&source=search_result&selectedTitle=1%7E150&usage_type=default&display_rank=1
20. American Diabetes Association Professional Practice Committee, ElSayed NA, Aleppo G, et al. 6. Glycemic Goals and Hypoglycemia: *Standards of*

Care in Diabetes—2024. Diabetes Care. 2024;47(Supplement_1):S111-S125. doi:10.2337/dc24-S006

21. Seaquist ER, Teff K, Heller SR. Impaired Awareness of Hypoglycemia in Type 1 Diabetes: A Report of An NIDDK Workshop in October 2021. *Diabetes Care.* 2022;45(12):2799-2805. doi:10.2337/dc22-1242
22. Thieu VT, Mitchell BD, Varnado OJ, Frier BM. Treatment and prevention of severe hypoglycaemia in people with diabetes: Current and new formulations of glucagon. *Diabetes Obes Metab.* 2020;22(4):469-479. doi:10.1111/dom.13941
23. Nathan DM, for the DCCT/EDIC Research Group. The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study at 30 Years: Overview. *Diabetes Care.* 2013;37(1):9-16. doi:10.2337/dc13-2112
24. Glycemic management and vascular complications in type 1 diabetes mellitus - UpToDate. Accessed May 14, 2024. https://www.uptodate.com/contents/glycemic-management-and-vascular-complications-in-type-1-diabetes-mellitus?search=complications%20of%20type%201%20diabetes%20mellitus&source=search_result&selectedTitle=1%7E150&usage_type=default&display_rank=1
25. Diabetic retinopathy: Classification and clinical features - Uptodate Free. Accessed May 15, 2024. <https://pro.uptodatefree.ir/Show/1783>
26. Albers JW, Pop-Busui R. Diabetic neuropathy: mechanisms, emerging treatments, and subtypes. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2014;14(8):473. doi:10.1007/s11910-014-0473-5
27. An updated overview of diabetic nephropathy: Diagnosis, prognosis, treatment goals and latest guidelines. doi:10.1111/dom.14007
28. Samsu N. Diabetic Nephropathy: Challenges in Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. Bellini MI, ed. *BioMed Research International.* 2021;2021:1-17. doi:10.1155/2021/1497449
29. Diabetic kidney disease: Manifestations, evaluation, and diagnosis - UpToDate. Accessed May 15, 2024.

- <https://www.uptodate.com/contents/diabetic-kidney-disease-manifestations-evaluation-and-diagnosis>
30. Editorial Board. *Kidney International*. 2024;105(4):A1. doi:10.1016/S0085-2538(24)00110-8
 31. Overview of peripheral artery disease in patients with diabetes mellitus - Uptodate Free. Accessed May 15, 2024. <https://pro.uptodatefree.ir/Show/17035>
 32. The management of type 1 diabetes in adults. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) | *Diabetologia*. Accessed May 8, 2024. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-021-05568-3>
 33. Management of blood glucose in adults with type 1 diabetes mellitus - Uptodate Free. Accessed May 16, 2024. <https://pro.uptodatefree.ir/Show/1796>
 34. Diabete mellito: gestione e terapia. In: *Harrison. Principi di medicina interna*. Vol 2. 2021st ed. Casa editrice ambrosiana; :3154-3171.
 35. Nutritional considerations in type 1 diabetes mellitus - UpToDate. Accessed May 16, 2024. <https://www.uptodate.com/contents/nutritional-considerations-in-type-1-diabetes-mellitus#H25>
 36. Glucose monitoring in the ambulatory management of nonpregnant adults with diabetes mellitus - UpToDate. Accessed May 17, 2024. <https://sso.uptodate.com/contents/glucose-monitoring-in-the-ambulatory-management-of-nonpregnant-adults-with-diabetes-mellitus#H3>
 37. Beck RW, Miller KM, Foster NC. The T1D Exchange Clinic Network and Registry: 10 Years of Enlightenment on the State of Type 1 Diabetes in the United States. *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2019;21(6):310-312. doi:10.1089/dia.2019.0129
 38. Crasto W, Jarvis J, Davies MJ. Insulin Management in Type 1 Diabetes. In: Crasto W, Jarvis J, Davies MJ, eds. *Handbook of Insulin Therapies*. Springer International Publishing; 2016:133-167. doi:10.1007/978-3-319-10939-8_5

39. Insulin Pumps & Continuous Glucose Monitors. UMass Chan Medical School. Published September 12, 2016. Accessed May 18, 2024. https://www.umassmed.edu/dcoe/diabetes-education/pumps_and_cgm/
40. Visser MM, Charleer S, Fieuws S, et al. Comparing real-time and intermittently scanned continuous glucose monitoring in adults with type 1 diabetes (ALERTT1): a 6-month, prospective, multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2021;397(10291):2275-2283. doi:10.1016/S0140-6736(21)00789-3
41. Bergenstal RM, Ahmann AJ, Bailey T, et al. Recommendations for Standardizing Glucose Reporting and Analysis to Optimize Clinical Decision Making in Diabetes: The Ambulatory Glucose Profile (AGP). *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2013;15(3):198-211. doi:10.1089/dia.2013.0051
42. Beck RW, Bergenstal RM, Riddlesworth TD, et al. Validation of Time in Range as an Outcome Measure for Diabetes Clinical Trials. *Diabetes Care*. 2018;42(3):400-405. doi:10.2337/dc18-1444
43. Effect of intensive therapy on residual beta-cell function in patients with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial. A randomized, controlled trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Ann Intern Med*. 1998;128(7):517-523. doi:10.7326/0003-4819-128-7-199804010-00001
44. General principles of insulin therapy in diabetes mellitus - UpToDate. Accessed May 19, 2024. <https://www.uptodate.com/contents/general-principles-of-insulin-therapy-in-diabetes-mellitus#H12>
45. Continuous subcutaneous insulin infusion (insulin pump) - Uptodate Free. Accessed May 19, 2024. <https://pro.uptodatefree.ir/Show/123060>
46. Insulin Pump Therapy. Medtronic Diabetes. Accessed May 20, 2024. <https://www.medtronic-diabetes.com/en-ZA/insulin-pump-therapy>
47. Il sistema Omnipod® è un microinfusore per insulina impermeabile e privo di tubi. Accessed May 20, 2024. <https://www.theras-group.com/business-units/gestione-del-diabete/omnipod/>
48. Misso ML, Egberts KJ, Page M, O'Connor D, Shaw J. Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) versus multiple insulin injections for

- type 1 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(1):CD005103. doi:10.1002/14651858.CD005103.pub2
49. Bekiari E, Kitsios K, Thabit H, et al. Artificial pancreas treatment for outpatients with type 1 diabetes: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* Published online April 18, 2018;k1310. doi:10.1136/bmj.k1310
50. Bergenstal Richard M., Tamborlane William V., Ahmann Andrew, et al. Effectiveness of Sensor-Augmented Insulin-Pump Therapy in Type 1 Diabetes. *New England Journal of Medicine.* 2010;363(4):311-320. doi:10.1056/NEJMoa1002853
51. American Diabetes Association Professional Practice Committee. 7. Diabetes Technology: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care.* 2023;47(Supplement_1):S126-S144. doi:10.2337/dc24-S007
52. Kim KW. Islet transplantation: a realistic alternative for the treatment of insulin deficient diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2004;66:S11-S17. doi:10.1016/j.diabres.2003.10.025
53. Benhamou PY, Franc S, Reznik Y, et al. Closed-loop insulin delivery in adults with type 1 diabetes in real-life conditions: a 12-week multicentre, open-label randomised controlled crossover trial. *Lancet Digit Health.* 2019;1(1):e17-e25. doi:10.1016/S2589-7500(19)30003-2
54. Senior P, Lam A, Farnsworth K, Perkins B, Rabasa-Lhoret R. Assessment of Risks and Benefits of Beta Cell Replacement Versus Automated Insulin Delivery Systems for Type 1 Diabetes. *Curr Diab Rep.* 2020;20(10):52. doi:10.1007/s11892-020-01339-3
55. Dionigi Renzo. *Dionigi Chirurgia.* Vol 1. 2022nd-Settima edizione ed. Edra
56. Evidence-informed clinical practice recommendations for treatment of type 1 diabetes complicated by problematic hypoglycemia - PubMed. Accessed June 7, 2024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25998294/>
57. Nadey Hakim, Robert Stratta, Derek Gray. *Pancreas and Islet Transplantation.* 2002nd ed. Oxford University Press

58. Samoylova ML, Borle D, Ravindra KV. Pancreas Transplantation: Indications, Techniques, and Outcomes. *Surgical Clinics of North America*. 2019;99(1):87-101. doi:10.1016/j.suc.2018.09.007
59. American Diabetes Association. Pancreas Transplantation for Patients With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(suppl_1):s120. doi:10.2337/diacare.26.2007.S120
60. Maffi P, Secchi A. Islet Transplantation Alone Versus Solitary Pancreas Transplantation: an Outcome-Driven Choice? *Curr Diab Rep*. 2019;19(5):26. doi:10.1007/s11892-019-1145-2
61. Pancreas-kidney transplantation in diabetes mellitus: Patient selection and pretransplant evaluation - UpToDate. Accessed May 21, 2024. https://www.uptodate.com/contents/pancreas-kidney-transplantation-in-diabetes-mellitus-patient-selection-and-pretransplant-evaluation?sectionName=PATIENT%20SELECTION&search=pancreas%20and%20islet%20transplantation&topicRef=1767&anchor=H74518619&source=see_link#H74518619
62. Kukla A, Ventura-Aguiar P, Cooper M, et al. Transplant Options for Patients With Diabetes and Advanced Kidney Disease: A Review. *American Journal of Kidney Diseases*. 2021;78(3):418-428. doi:10.1053/j.ajkd.2021.02.339
63. Fridell JA, Stratta RJ. Modern indications for referral for kidney and pancreas transplantation. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2023;32(1):4. doi:10.1097/MNH.0000000000000846
64. Al-Naseem AO, Attia A, Gonnah AR, et al. Pancreas transplantation today: quo vadis? *European Journal of Endocrinology*. 2023;188(4):R73-R87. doi:10.1093/ejendo/lvad032
65. How to Recognize a Suitable Pancreas Donor: A Eurotransplant Study of Preprocurement Factors - ScienceDirect. Accessed May 31, 2024. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041134508003989?via%3Dihub>
66. Axelrod DA, Sung RS, Meyer KH, Wolfe RA, Kaufman DB. Systematic Evaluation of Pancreas Allograft Quality, Outcomes and Geographic Variation in Utilization. *American Journal of Transplantation*. 2010;10(4):837-845. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02996.x

67. Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. *Sabiston Textbook of Surgery: the biological basis of modern surgical practice*. 2021st ed. Elsevier
68. Briceño J, Sánchez-Hidalgo JM, Arjona-Sanchez A. Back-table surgery pancreas allograft for transplantation: Implications in complications. *World J Transplant*. 2021;11(1):1-6. doi:10.5500/wjt.v11.i1.1
69. Ferrer-Fàbrega J, Fernández-Cruz L. Exocrine drainage in pancreas transplantation: Complications and management. *World J Transplant*. 2020;10(12):392-403. doi:10.5500/wjt.v10.i12.392
70. D'Alessandro C, Todisco M, Bella CD, et al. Surgical complications after pancreatic transplantation: A computed tomography imaging pictorial review. *World J Gastroenterol*. 2023;29(46):6049-6059. doi:10.3748/wjg.v29.i46.6049
71. Fioretto Paola, Steffes Michael W., Sutherland David E.R., Goetz Frederick C., Mauer Michael. Reversal of Lesions of Diabetic Nephropathy after Pancreas Transplantation. *New England Journal of Medicine*. 1998;339(2):69-75. doi:10.1056/NEJM199807093390202
72. A.M. James Shapiro, James A. M. Shaw. *Islet Transplantation and Beta Cell Replacement Therapy*. 2007th ed. Informa Healthcare USA
73. Czarnecka Z, Dadheech N, Razavy H, Pawlick R, Shapiro AMJ. The Current Status of Allogenic Islet Cell Transplantation. *Cells*. 2023;12(20):2423. doi:10.3390/cells12202423
74. Piemonti L, Pileggi A. 25 YEARS OF THE RICORDI AUTOMATED METHOD FOR ISLET ISOLATION. *CellR4 Repair Replace Regen Reprogram*. 2013;1(1):e128.
75. Shapiro AMJ, Lakey JRT, Ryan EA, et al. Islet Transplantation in Seven Patients with Type 1 Diabetes Mellitus Using a Glucocorticoid-Free Immunosuppressive Regimen. *N Engl J Med*. 2000;343(4):230-238. doi:10.1056/NEJM200007273430401
76. Shapiro AMJ, Pokrywczynska M, Ricordi C. Clinical pancreatic islet transplantation. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(5):268-277. doi:10.1038/nrendo.2016.178

77. Markmann JF, Rickels MR, Eggerman TL, et al. Phase 3 trial of human islet-after-kidney transplantation in type 1 diabetes. *American Journal of Transplantation*. 2021;21(4):1477-1492. doi:10.1111/ajt.16174
78. Rickels MR, Robertson RP. Pancreatic Islet Transplantation in Humans: Recent Progress and Future Directions. *Endocr Rev*. 2019;40(2):631-668. doi:10.1210/er.2018-00154
79. Clinical use of donation after circulatory death pancreas for islet transplantation - ScienceDirect. Accessed May 31, 2024. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1600613522087160?via%3Dihub>
80. Quality control for clinical islet transplantation: organ procurement and preservation, the islet processing facility, isolation, and potency tests | Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences. Accessed June 1, 2024. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00534-009-0064-z>
81. Human pancreatic tissue dissociation enzymes for islet isolation: Advances and clinical perspectives - ScienceDirect. Accessed June 1, 2024. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871402120300163?via%3Dihub>
82. Rheinheimer J, Bauer AC, Silveiro SP, et al. Human pancreatic islet transplantation: an update and description of the establishment of a pancreatic islet isolation laboratory. *Arch Endocrinol Metab*. 2015;59(2):161-170. doi:10.1590/2359-3997000000030
83. Venturini M, Sallemi C, Marra P, et al. Allo- and auto-percutaneous intra-portal pancreatic islet transplantation (PIPIT) for diabetes cure and prevention: the role of imaging and interventional radiology. *Gland Surg*. 2018;7(2):117-131. doi:10.21037/gs.2017.11.12
84. Rickels MR, Stock PG, de Koning EJP, et al. Defining Outcomes for β -cell Replacement Therapy in the Treatment of Diabetes: A Consensus Report on the Igl's Criteria From the IPITA/EPITA Opinion Leaders Workshop. *Transplantation*. 2018;102(9):1479-1486. doi:10.1097/TP.0000000000002158
85. Landstra CP, Andres A, Chetboun M, et al. Examination of the Igl's Criteria for Defining Functional Outcomes of β -cell Replacement Therapy: IPITA Symposium Report. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021;106(10):3049-3059. doi:10.1210/clinem/dgab386

86. Bond Z, Malik S, Bashir A, et al. Validation of Igl Criteria for Islet Transplant Functional Status Using Person-Reported Outcome Measures in a Cross-Sectional Study. *Transpl Int*. 2023;36:11659. doi:10.3389/ti.2023.11659
87. Lablanche S, Vantyghem MC, Kessler L, et al. Islet transplantation versus insulin therapy in patients with type 1 diabetes with severe hypoglycaemia or poorly controlled glycaemia after kidney transplantation (TRIMECO): a multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2018;6(7):527-537. doi:10.1016/S2213-8587(18)30078-0
88. C_17_cntPubblicazioni_50_allegato.pdf. Accessed June 13, 2024. https://www.trapianti.salute.gov.it/imgs/C_17_cntPubblicazioni_50_allegato.pdf
89. Gangemi A, Salehi P, Hatipoglu B, et al. Islet Transplantation for Brittle Type 1 Diabetes: The UIC Protocol. *American Journal of Transplantation*. 2008;8(6):1250-1261. doi:10.1111/j.1600-6143.2008.02234.x
90. Forbes S, Oram RA, Smith A, et al. Validation of the BETA-2 Score: An Improved Tool to Estimate Beta Cell Function After Clinical Islet Transplantation Using a Single Fasting Blood Sample. *American Journal of Transplantation*. 2016;16(9):2704-2713. doi:10.1111/ajt.13807
91. Czupryniak L, Dzida G, Fichna P, et al. Ambulatory Glucose Profile (AGP) Report in Daily Care of Patients with Diabetes: Practical Tips and Recommendations. *Diabetes Ther*. 2022;13(4):811-821. doi:10.1007/s13300-022-01229-9
92. Pancreas and Islet Transplantation: Comparative Outcome Analysis of a Single-centre Cohort Over 20-years - PubMed. Accessed May 7, 2024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36538619/>
93. Gerber PA, Hochuli M, Benediktsdottir BD, et al. Islet transplantation as safe and efficacious method to restore glycemic control and to avoid severe hypoglycemia after donor organ failure in pancreas transplantation. *Clin Transplant*. 2018;32(1). doi:10.1111/ctr.13153
94. Stratta RJ, Farney AC, Fridell JA. Analyzing outcomes following pancreas transplantation: Definition of a failure or failure of a definition. *American Journal of Transplantation*. 2022;22(6):1523-1526. doi:10.1111/ajt.17003

95. Niederhaus SV, Carrico RJ, Prentice MA, et al. C-peptide levels do not correlate with pancreas allograft failure: Multicenter retrospective analysis and discussion of the new OPT definition of pancreas allograft failure. *Am J Transplant*. 2019;19(4):1178-1186. doi:10.1111/ajt.15118
96. International Trial of the Edmonton Protocol for Islet Transplantation | New England Journal of Medicine. Accessed May 19, 2024. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa061267>
97. Effects of islet transplantation on microvascular and macrovascular complications in type 1 diabetes - PubMed. Accessed June 23, 2024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33780027/#>
98. Beta-cell function and the development of diabetes-related complications in the diabetes control and complications trial - PubMed. Accessed June 25, 2024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12610045/>
99. Beta-score: an assessment of beta-cell function after islet transplantation - PubMed. Accessed June 15, 2024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15677790/>
100. Chetboun M, Drumez E, Ballou C, et al. Association between primary graft function and 5-year outcomes of islet allogeneic transplantation in type 1 diabetes: a retrospective, multicentre, observational cohort study in 1210 patients from the Collaborative Islet Transplant Registry. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2023;11(6):391-401. doi:10.1016/S2213-8587(23)00082-7
101. Long Term Insulin Independence and Improvement in Insulin Secretion after Supplemental Islet Infusion under Exenatide and Etanercept - PMC. Accessed June 25, 2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2759384/>
102. Hering BJ, Kandaswamy R, Ansite JD, et al. Single-donor, marginal-dose islet transplantation in patients with type 1 diabetes. *JAMA*. 2005;293(7):830-835. doi:10.1001/jama.293.7.830
103. In Vitro and In Vivo Investigation of the Angiogenic Effects of Liraglutide during Islet Transplantation - PubMed. Accessed June 25, 2024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26974949/>
104. Rickels MR, Eggerman TL, Bayman L, et al. Long-term Outcomes With Islet-Alone and Islet-After-Kidney Transplantation for Type 1 Diabetes in

the Clinical Islet Transplantation Consortium: The CIT-08 Study. *Diabetes Care*. 2022;45(12):2967-2975. doi:10.2337/dc21-2688

105. Brooks AM, Oram R, Home P, Steen N, Shaw JAM. Demonstration of an Intrinsic Relationship Between Endogenous C-Peptide Concentration and Determinants of Glycemic Control in Type 1 Diabetes Following Islet Transplantation. *Diabetes Care*. 2014;38(1):105-112. doi:10.2337/dc14-1656
106. Barton FB, Rickels MR, Alejandro R, et al. Improvement in Outcomes of Clinical Islet Transplantation: 1999–2010. *Diabetes Care*. 2012;35(7):1436-1445. doi:10.2337/dc12-0063